

プログラム



JAOB JAPANESE ASSOCIATION FOR
ORAL BIOLOGY since 1958

ロッテ基金特別講演 (PL1, PL2)

ライオン学術賞受賞講演 (L1)

歯科基礎医学会学会奨励賞受賞講演 (Y1~Y3)

メインシンポジウム (MS1~MS3)

日韓シンポジウム (JKS1)

歯科基礎医学会学術シンポジウム (GS1)

先端歯学国際教育研究ネットワークシンポジウム (AD1)

2040年への歯科イノベーションロードマップ キックオフシンポジウム (KS1)

日本学術会議シンポジウム (CS1)

ランチョンセミナー (LS1, LS2)

歯科基礎医学会・日本唾液腺学会共催シンポジウム (KDS1)

アップデートシンポジウム (US1~US7)

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

PL1 西村 一郎

(UCLA 歯 先端補綴, ワイントロープ研)

「複合組織エンジニアリングをめざして：時計遺伝子による細胞分化制御」

座長：中村 雅典 (昭大 歯 口腔解剖)

日時：10月13日 (日) 10:00~11:15

会場：A 会場

■ ロッテ基金特別講演 2

Special lecture accorded by the LOTTE Foundation 2

PL2 井上 正康

(健康科学研究所, 大阪市大)

「共生進化の生存戦略と 21 世紀病の逆襲」

座長：山本 仁 (東歯大 組織発生)

日時：10月13日 (日) 11:15~12:30

会場：A 会場

■ ライオン学術賞受賞講演

Lecture by JAOB/Lion Dent Research Awards Winner

L1 美島 健二

(昭大 歯 口腔病理)

「唾液分泌障害への再生医療の応用」

座長：中村 雅典 (昭大 歯 口腔解剖)

日時：10月13日 (日) 13:20~14:50

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

2019年度 (第31回歯科基礎医学会学術奨励賞)

日時：10月14日 (月) 9:00~10:00

会場：C 会場

【病理学部門】座長：仙波伊知郎 (鹿大 院医歯 口腔病理解析)

Y1 片瀬 直樹 (長大 生命医科学域(歯学系) 口腔病理)

「DKK3 過剰発現は頭頸部扁平上皮癌細胞の悪性度を増加させる」

受賞対象論文：DKK3 overexpression increases the malignant properties of head and neck squamous cell carcinoma cells. *Oncology Research* 26 巻 45 頁~58 頁 (2018 年発行)

【微生物学部門】座長：川端 重忠 (阪大 院歯 口腔細菌)

Y2 土門 久哲 (新潟大 院医歯 微生物感染症)

「肺炎重症化における好中球エラスターゼの病原性解析」

受賞対象論文：Neutrophil elastase subverts the immune response by cleaving toll-like receptors and cytokines in pneumococcal pneumonia. *Frontiers in Immunology* 9 巻 732 頁(1~11 頁) (2018 年発行)

- 【生化学部門】 座長：上條竜太郎（昭大 歯 口腔生化）
- Y3 塚崎 雅之^{1,2}（¹東大 院医 免疫, ²医科歯科大 院医歯 細菌感染制御）
「骨免疫学の新展開」
受賞対象論文：Host defense against oral microbiota by bone-damaging T cells.
Nature Communications 9 巻 701 頁（2018 年発行）

■ メインシンポジウム Main symposium

メインシンポジウム 1

「RANKL-RANK-OPG シグナル研究の最前線」

オーガナイザー：網塚 憲生（北大 院歯 硬組織）
宇田川信之（松歯大 生化）

日時：10月12日（土）14：30～16：00

会場：A 会場

- MS1-1 「RANKL をターゲットとした骨形成促進薬の可能性」
青木 和広（医科歯科大 院医歯 口腔基礎工）
- MS1-2 「腸管ならびに呼吸器粘膜における RANKL-RANK-OPG による M 細胞の
分化制御機構」
木村 俊介^{1,2}（¹北大 院医 組織細胞, ²慶大 薬 生化）
- MS1-3 「オステオプロテゲリンは心不全の治療標的になる」
鶴田 敏博（宮崎大 医 内科 循環体液制御）
- MS1-4 「骨粗鬆症治療薬候補としての Siglec-15 抗体の研究」
津田 英資（第一三共株式会社スペシャルティ第一研）

メインシンポジウム 2

「味覚の新たな方向性」

オーガナイザー：重村 憲徳（九大 院歯 口腔機能解析）
瀬田 祐司（九歯大 口腔組織機能解析）

日時：10月13日（日）13：20～14：50

会場：B会場

MS2-1 「味蕾細胞分化の調節因子」

三浦 裕仁（鹿大 院医歯 口腔生理）

MS2-2 「味細胞オルガノイドを用いた味細胞分化/増殖に影響を及ぼす因子の探索」

高井 信吾（九大 院歯 口腔機能解析）

MS2-3 「脂肪酸受容体の舌における部位的・時間的機能分担」

安松 啓子^{1,2}（¹東歯大 口腔科学研究セ，²九大 五感応用デバイス研究開発セ）

MS2-4 「甘味およびそれに伴う心地よさを選択的に伝達する神経細胞の発見」

中島健一郎（生理学研 生殖・内分泌系発達機構）

メインシンポジウム 3

「骨と筋の遺伝性疾患の遺伝子治療：現状と今後の展望」

オーガナイザー：笠原 正貴（東歯大 薬理）
東 俊文（東歯大 生化）

日時：10月14日（月）13：00～14：40

会場：A会場

MS3-1 「低ホスファターゼ症の遺伝子治療」

高橋 有希（東歯大 薬理）

MS3-2 「低ホスファターゼ症の歯科症状」

新谷 誠康（東歯大 小児歯）

MS3-3 「遺伝性疾患における遺伝子治療の現状と今後の展望」

武田 伸一（国立精神・神経医療研究セ）

■ 日韓シンポジウム JAOB-KAOS Symposium

「Molecular approach for tooth evolution」

オーガナイザー：兼松 隆（九大 口腔機能分子科学）

山本 仁（東歯大 組織発生）

日時：10月12日（土）16：10～17：40

会場：A 会場

JKS1-1 「Identification and functional evaluation of novel signaling molecules involved in tooth development」

Jae-Young Kim (Dept Biochem, Sch Dent IHBR, Kyungpook Natl Univ Korea)

JKS1-2 「遺伝子改変メダカを用いた、歯の生え変わり制御機構の解明」

茶谷 昌宏（昭大 歯 歯科薬理）

JKS1-3 「条鰭類のカラーエナメル解析からエナメル質の起源を探る」

中富 満城（九歯大 解剖）

■ 歯科基礎医学会学術シンポジウム Symposium of JAOB

「臓器間ネットワークの基礎的研究と健康寿命の延伸」

座長：槻木 恵一（神歯大 院歯 口腔科学）

日時：10月13日（日）15：00～16：30

会場：A 会場

GS1-1 「リン代謝ネットワーク調節機構と疾患」

瀬川 博子（徳大 医 分子栄養）

GS1-2 「歯周病原菌が動脈硬化に及ぼす影響と予防戦略」

落合 智子（日大松戸歯 微生物免疫）

GS1-3 「唾液腺産生生理活性物質の脳への影響と行動変容」

猿田 樹理 (神歯大 院歯 口腔科学)

GS1-4 「腸管免疫の賦活化が唾液中 IgA に与える影響 腸-唾液腺相関」

山本 裕子 (神歯大 短大 歯科衛生)

■ 先端歯学国際教育研究ネットワークシンポジウム
Symposium Cooperated by “Network for International
Education and Research in Advanced Dental Sciences”

「次世代歯学研究者のゆくえ」

オーガナイザー：石丸 直澄 (徳大 院医歯薬 口腔分子病態)

自見栄治郎 (九大 院歯 OBT 研究セ)

日時：10月13日(日) 15:00~16:30

会場：B会場

AD1-1 「脂肪細胞を細胞死へと導く骨基質タンパク Osteocalcin」

大谷 崇仁 (福歯大 機能構造)

AD1-2 「歯の矯正学的移動に伴う骨細胞における RANKL 発現」

庄司あゆみ (医科歯科大 院医歯 顎顔面矯正)

AD1-3 「CD40-CD40L クロストークによる歯周組織の炎症制御機構と再生誘導機構」

藤原 千春 (阪大 院歯 歯周)

AD1-4 「自己免疫疾患モデルにおける標的臓器常在型マクロファージの役割」

牛尾 綾 (徳大 院医歯薬 口腔分子病態)

■ 2040年への歯科イノベーションロードマップ キックオフシンポジウム

Dental Innovation Roadmap to 2040—Kickoff symposium

「口腔・全身の健康増進を目指す口腔マイクロバイオームの解明」

オーガナイザー：山下 喜久（九大 院歯 口腔予防）
山崎 和久（新潟大 院医歯 口腔保健）

日時：10月14日（月）9：00～11：00

会場：A会場

KS1-1 「口腔マイクロバイオーム解析の臨床応用の可能性」

山下 喜久（九大 院歯 口腔予防）

KS1-2 「メタボロミクスで読み解く歯周病原性細菌叢の代謝活性」

久保庭雅恵（阪大 院歯 予防歯科）

KS1-3 「長鎖型NGSを用いたヒト腸内マイクロバイオームのメタゲノミクス」

服部 正平（早大 院理工 先進理工）

KS1-4 「口-腸連関に基づくPeriodontal medicine 病因論」

山崎 和久（新潟大 院医歯 口腔保健）

■ 日本学術会議シンポジウム

Symposium of Science Council of Japan

「口腔・全身のネットワーク～最先端研究—免疫・神経・内分泌～」

オーガナイザー：石丸 直澄（徳大 院医歯薬 口腔解剖）
中村 雅典（昭大 歯 口腔解剖）

日時：10月14日（月）9：00～11：00

会場：B会場 後援：日本生命科学アカデミー

CS1-1 「骨免疫学および感染症の最前線」

塚崎 雅之^{1,2}（¹東大 院医 免疫, ²医科歯科大 院医歯 細菌感染制御）

CS1-2 「延髄 C1 ニューロンを介する新たな抗炎症効果」

安部 力 (岐阜大 院医 生理)

CS1-3 「マクロファージ・樹状細胞の分化と機能」

樗木 俊聡 (医科歯科大 難治研 生体防御)

CS1-4 「アレルギーにおけるネオ・セルフ」

小笠原康悦^{1,2} (¹東北大 加齢研 生体防御, ²東北大 院歯 口腔免疫)

■ ランチョンセミナー

Lunchon seminar

ランチョンセミナー 1

「うまみ研究の最前線—うまみシグナルの受容と伝導のメカニズム—」

座長：三坂 巧 (東大 院農 応生化)

吉田 竜介 (岡大 院医歯薬 口腔生理)

日時：10月14日(月) 11:50~12:50

会場：B会場 協賛：味の素株式会社

LS1-1 「うま味受容体におけるリガンド選択性を決める分子メカニズム」

三坂 巧 (東大 院農 応生化)

LS1-2 「うま味の末梢伝導路」

吉田 竜介 (岡大 院医歯薬 口腔生理)

ランチョンセミナー 2

「若手研究者のための Author Workshop：学術論文作成に必要な効率的な PubMed 文献検索法と画像処理について」

座長：笹野 泰之 (東北大 院歯 顎口腔形態創建)

日時：10月14日(月) 11:50~12:50

会場：C会場 協賛：エルゼビア・ジャパン株式会社

LS2 「若手研究者のための Author Workshop：学術論文作成に必要な効率的な PubMed 文献検索法と画像処理について」

大島 勇人^{1,2} (¹新潟大 院医歯 硬組織形態, ²J Oral Biosci 誌副編集委員長)

■ 歯科基礎医学会・日本唾液腺学会共催シンポジウム
The joint symposium of Japan Salivary Gland Society
and Japanese Association for Oral Biology

「唾液腺の基礎研究から再生医療へ」

オーガナイザー：天野 修 (明海大 解剖)
吉垣 順子 (日大松戸歯 生理)

日時：10月14日(月) 13:00~14:40

会場：B会場

KDS1-1 「唾液腺研究に果たす歯科基礎医学会と日本唾液腺学会の役割」

天野 修 (明海大 歯 解剖)

KDS1-2 「In vivo 機能解析と遺伝子情報に基づく唾液腺機能亢進機構の研究と口腔乾燥症治療への提案」

谷村 明彦 (北医療大 歯 薬理)

KDS1-3 「唾液腺形成における mTOR シグナル伝達経路の解析」

阪井 丘芳 (阪大 院歯 顎口腔機能)

KDS1-4 「マウス ES 細胞由来唾液腺オルガノイドを用いた唾液腺再生」

田中 準一 (昭大 歯 口腔病理)

■ アップデートシンポジウム

Update symposia

アップデートシンポジウム 1

「がんの多様性と新規治療法への展望」

オーガナイザー：江口 傑徳 (岡大 院医歯薬 歯科薬理)
樋田 京子 (北大 院歯 血管生物分子病理)

日時：10月12日(土) 14:30~16:00

会場：B会場

US1-1 「口腔癌の進展と抵抗性における細胞外小胞の重要な役割」

江口 傑徳 (岡大 院医歯薬 歯科薬理)

- US1-2 「再発又は転移性頭頸部扁平上皮癌の病態解明と分子標的薬」
中村 博幸（金沢大 医薬保健研究 顎顔面口腔外科）
- US1-3 「腫瘍血管内皮細胞による Biglycan の分泌を介したがんの転移促進」
間石 奈湖（北大 院歯 血管生物分子病理）
- US1-4 「口腔扁平上皮癌における分子シャペロン R2TP の機能解析と新規ターゲットの探索」
柿原 嘉人（新潟大 院医歯 歯科薬理）

アップデートシンポジウム 2

「The Challenge Reports on Oral Biofilm by Young Researchers」

オーガナイザー：大島 朋子（鶴大 歯 口腔微生物）
鷺尾 純平（東北大 院歯 口腔生化）
佐藤 拓一（新潟大 院保）

日時：10月12日（土）14：30～16：00

会場：C 会場

- US2-1 「Nitrate/nitrite promote the growth and nitrite production of oral *Veillonella*」
Dimas Prasetianto Wicaksono (Div Oral Ecol Biochem, Dept Oral Biol, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
- US2-2 「Analysis of oral microbiota in Japanese oral cancer patients using 16S rRNA sequencing」
Jonguk Park (Lab Bioinformatics, Natl Inst Biomed Innovat, Health and Nutr)
- US2-3 「Profiling of microbiota in baby-drinks and liquid baby formula consumed with an artificial nipple」
Anna Wakui (Div Clin Chem, Dept Med Technol, Niigata Univ Grad Sch Health Sci)
- US2-4 「Spatiotemporal analysis of bacterial surfaces treated with antimicrobials」
Satoru Hirayama (Dept Bac I, Natl Inst Infect Dis)
- US2-5 「Identification of distinct bacterial species in the salivary microbiota of digestive tract cancer patients」
Shinya Kageyama (Sect Prevent Dent Public Health, Kyushu Univ Grad Sch Dent)

アップデートシンポジウム 3

「若手研究者が展開する Secretion Biology のカッティングエッジ」

オーガナイザー：柏俣 正典（朝日大 歯 歯科薬理）
橋本 貞充（東歯大 生物）

日時：10月12日（土）16：10～17：40

会場：B会場

US3-1 「放射線照射後に生じる外分泌腺の機能障害に関する検討」

内田 仁司（Cent for Oral Biol, Univ of Rochester）

US3-2 「唾液腺障害モデルから探索する再生医療への可能性」

皆木 瞳（阪大 院歯 顎治）

US3-3 「傷害を受けた唾液腺の代償作用を担う因子の検索」

横山 愛（日大松戸歯 生理）

US3-4 「オルガンバス実験系を用いたラット腺の内外分泌の同時評価」

森田亜州華（獨協医大 医 薬理）

アップデートシンポジウム 4

「象牙芽細胞・骨芽細胞の cell differentiation アップデート」

オーガナイザー：大島 勇人（新潟大 院医歯 硬組織形態）
長谷川智香（北大 院歯 硬組織発生生物）

日時：10月12日（土）14：30～16：00

会場：D会場

US4-1 「オーバービュー：象牙芽細胞と骨芽細胞の分化の違いを考える」

大島 勇人（新潟大 院医歯 硬組織形態）

US4-2 「歯髄細胞から象牙芽細胞分化に及ぼすミダゾラムのドラッグ・リポジョ
ニング効能」

唐木田丈夫 (鶴大 歯 分子生化)

US4-3 「間葉系幹細胞が司る硬組織維持機構の解析」

溝口 利英 (東歯大 口腔科学研究セ)

US4-4 「骨細胞分化のバイオイメージング」

長谷川智香 (北大 院歯 硬組織)

アップデートシンポジウム 5

「若手研究者による口腔生理学最前線」

オーガナイザー：小野堅太郎 (九歯大 生理)

加藤 隆史 (阪大 歯 生理)

日時：10月12日 (土) 16:10~17:40

会場：C会場

US5-1 「小学生児童の味覚検査」

井出 良治 (日歯大 生命歯 生理)

US5-2 「モデル動物を用いた味覚障害発症機構の解明」

佐藤 元 (阪大 院歯 口腔生理)

US5-3 「歯と体内時計のバイオロジー ～成長線の形成周期は24時間?～」

小野龍太郎 (京府医大 院医 統合生理)

US5-4 「象牙芽細胞におけるアルカリ刺激受容機構」

木村 麻記 (東歯大 生理)

US5-5 「口腔内ストレスは心房組織のリモデリングを誘導して心房細動のリスクを
高める」

吹田 憲治 (鶴大 歯 生理)

アップデートシンポジウム 6

「独創的な研究の実現 —研究室運営を学ぶ At the Helm—」

オーガナイザー：城戸 瑞穂（佐賀大 医）
安松 啓子（東歯大 口腔科学セ）

日時：10月12日（土）16：10～17：40

会場：D 会場

US6-1 「他分野の研究者・企業との連携」

山田 好秋（東歯大 短大）

US6-2 「研究を継続すること」

東 みゆき（医科歯科大 院医歯 分子免疫）

US6-3 「Serendipity を求めて」

平田 雅人（福歯大 口腔歯）

アップデートシンポジウム 7

「軟骨の発生と再生：基礎・臨床の視点から」

オーガナイザー：崎山 浩司（明海大 歯 解剖）
柴田 俊一（医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖）

日時：10月14日（月）10：00～11：30

会場：E 会場

US7-1 「特徴的な軟骨内骨化を示す翼状突起軟骨の組織学的解明」

北村 啓（東歯大 組織発生）

US7-2 「軟骨内骨化における septoclast の由来と役割」

坂東 康彦（明海大 歯 解剖）

US7-3 「軟骨内骨化過程におけるポリコム群タンパク質 Bmi1 の局在」

建部 廣明（北医療大 歯 組織）

US7-4 「変形性顎関節症モデルマウスにおける NG2 プロテオグリカンと VI 型コラーゲンの相互作用」

四ツ谷 護（東歯大 クラウンブリッジ補綴）

■ 一般演題（口演）

10月12日（土）16：10～16：40 E会場

骨・軟骨・骨代謝1・・・・・・・・・・・・・・・・座長：二藤 彰（鶴大 歯 薬理）

01-01	Dgcr2 ノックアウトマウスを用いた 22q11.2 欠失症候群の顎顔面症状と頭蓋底成長との関連性の解析 ○梶原 景正（東海大 医 分子生命科学）
01-02	骨細胞分化や分化段階の維持における Wnt- β カテニン経路の役割 ○草野慎之介 ¹ ，犬伏 俊博 ¹ ，村田 有香 ¹ ，伊藤 慎将 ¹ ，黒坂 寛 ¹ ，佐々木淳一 ² ，山城 隆 ¹ （ ¹ 阪大 院歯 矯正， ² 阪大 院歯 歯科理工）
01-03	破骨細胞分化過程における低出力超音波パルスの細胞死誘導作用とそのメカニズムの解析 ○青山絵理子 ¹ ，久保田 聡 ² ，滝川 正春 ¹ （ ¹ 岡大 院医歯薬 歯先端研セ， ² 岡大 院医歯薬 口腔生化）

10月12日（土）16：40～17：10 E会場

骨・軟骨・骨代謝2・・・・・・・・・・・・・・・・座長：岡村 裕彦（岡大 院医歯薬 口腔形態）

01-04	ヒト骨芽細胞において活性持続型ビタミン C は III 型コラーゲン合成を介して細胞増殖を促進する ○畑 隆一郎，前畑洋次郎（神歯大 院歯 口腔難治疾患研）
01-05	骨芽細胞分化における Vgl13 の発現 ○池亀 美華，内部 健太，岡村 裕彦（岡大 院医歯薬 口腔形態）
01-06	骨細胞特異的ヒアルロン酸合成酵素ノックアウトマウスの解析 ○森田 知里 ¹ ，犬伏 俊博 ¹ ，伊藤 慎将 ¹ ，宇佐美 悠 ² ，豊澤 悟 ² ，山口 祐 ³ ，山城 隆 ¹ （ ¹ 阪大 院歯 矯正， ² 阪大 院歯 口腔病理， ³ サンフォードバーナムプレビス医学研）

10月12日（土）17：10～17：40 E会場

骨・軟骨・骨代謝3・・・・・・・・・・・・・・・・座長：高見 正道（昭大 歯 歯科薬理）

01-07	解糖阻害は初期分化段階の初代骨芽細胞においてユビキチン-プロテアソーム系を介してアポトーシスタンパク質の発現を増加させる ○大西 智和，千葉 紀香，松口 徹也（鹿大 院医歯 口腔生化）
01-08	骨芽細胞の分化と細胞死におけるクォーラムセンシング因子 AHL の影響 ○岡村 裕彦 ¹ ，池亀 美華 ¹ ，吉田 賀弥 ² （ ¹ 岡大 院医歯薬 口腔形態， ² 徳大 院医歯薬 口腔保健教育）
01-09	ケモカイン CCL25 が骨組織に与える影響 ○高橋 拓実 ¹ ，二宮 禎 ² ，細川 明宏 ³ ，中村 浩彰 ⁴ ，雪田 聡 ⁵ （ ¹ 静岡大 院農 応用生命化学， ² 日大 歯 解剖， ³ 松歯大 院総歯研 硬組織形態解析， ⁴ 北医療大 歯 組織， ⁵ 静岡大 院 教育(理科)）

10月13日（日）13：20～14：10 C会場

筋・・・・・・・・・・・・・・・・座長：奥村 敏（鶴大 歯 生理）
澁川 義幸（東歯大 生理）

02-01	咬合異常マウスの咬筋筋肥大効果における miRNA の役割 ○梅木 大輔 ¹ ，大貫 芳樹 ² ，伊藤 愛子 ¹ ，八木澤由佳 ¹ ，吹田 憲治 ² ，石川美佐緒 ³ ，友成 博 ¹ ，奥村 敏 ² （ ¹ 鶴大 院歯 矯正， ² 鶴大 歯 生理， ³ 鶴大 歯 口腔解剖）
02-02	咬合異常モデルにおける心臓リモデリングと β アドレナリン受容体遮断薬による抑制効果 ○八木澤由佳 ¹ ，大貫 芳樹 ² ，梅木 大輔 ¹ ，吹田 憲治 ² ，伊藤 愛子 ¹ ，早川 佳男 ³ ，松尾 一郎 ⁴ ，中村 芳樹 ¹ ，友成 博 ¹ ，奥村 敏 ² （ ¹ 鶴大 歯 矯正， ² 鶴大 歯 生理， ³ 鶴大 歯 麻酔， ⁴ 鶴大 歯 歯周病）
02-03	<i>Porphyromonas gingivalis</i> 由来の LPS による心機能障害とベータアドレナリン受容体シグナルとの関連性 ○松尾 一郎（鶴大 歯 歯周病）
02-04	骨格筋細胞の分化が β アドレナリン受容体の発現量に及ぼす影響とその生理学的役割 ○伊藤 愛子 ¹ ，大貫 芳樹 ² ，梅木 大輔 ¹ ，吹田 憲治 ² ，石川美佐緒 ³ ，八木澤由佳 ¹ ，中村 芳樹 ¹ ，友成 博 ¹ ，奥村 敏 ² （ ¹ 鶴大 歯 矯正， ² 鶴大 歯 生理， ³ 鶴大 歯 解剖）

02-05 口腔のストレスに起因する心疾患に対する抗ヘルペス薬（ビダラビン）の予防効果
 ○早川 佳男¹, 大貫 芳樹², 吹田 憲治², 石川美紗緒³, 伊藤 愛子⁴, 川村 直矢⁵, 八木澤由佳⁴, 松尾 一朗⁵, 河原 博¹, 奥村 敏² (1鶴大 歯 麻酔, 2鶴大 歯 生理, 3鶴大 歯 解剖I, 4鶴大 歯 矯正, 5鶴大 歯 歯周病)

10月13日(日) 14:10~14:40 C会場

歯周組織 1 座長：小野堅太郎（九歯大 歯 生理）

02-06 短鎖脂肪酸誘導歯肉上皮細胞死にはヒストンアセチルトランスフェラーゼ活性優位の状況が必要である
 ○津田 啓方, 鈴木 直人 (日大 歯 生化)

02-07 トランスクリプトーム解析による短鎖脂肪酸誘導細胞死の誘導メカニズムの探索
 ○室伏 貴久, 津田 啓方, 鈴木 直人 (日大 歯 生化)

02-08 セメント芽細胞におけるCa²⁺活性化K⁺チャネル発現
 ○鎌田 聡仁¹, 東川明日香², 木村 麻記², 井上 博之³, 大山 定男², 大房 航², 澁川 義幸², 山下秀一郎¹ (1東歯大 パーシャル補綴, 2東歯大 生理, 3東歯大 麻酔)

10月13日(日) 14:40~15:10 C会場

歯周組織 2 座長：入江 一元（北医療大 歯 組織）

02-09 Gli1 陽性歯根膜細胞は幹細胞特性を有し、歯槽骨再生に寄与する
 ○Shakehin Nazmus¹, 細矢 明宏¹, 建部 廣明¹, 溝口 利英², 吉羽 永子³, 吉羽 邦彦⁴, 中村 浩彰⁵, HASAN Md Riasat¹, 入江 一元¹ (1北医大 歯 組織, 2東歯大 口科研, 3新潟大 院医歯 う蝕, 4新潟大 院医歯 口腔保健, 5松歯大 口腔解剖II)

02-10 機械・活性酸素種感受性 TRPA1 チャネルは歯の移動に伴う疼痛発症に関与する
 ○森井 葵^{1,2}, 宮村 侑一^{1,3}, 人見 涼露¹, 鹿山 武海^{1,4}, 氏原 泉¹, 左合-伊藤 美紗², 郡司掛香織², 川元 龍夫², 小野堅太郎¹ (1九歯大 歯 生理, 2九歯大 歯 顎口腔機能矯正, 3九歯大 歯 放射線, 4九歯大 歯 歯周病)

02-11 口腔粘膜上皮細胞の骨芽細胞様細胞への影響 ー共培養による検討ー
 ○堀川 正¹, 中條 貴俊¹, 國分 克寿^{1,2}, 國分 栄仁², 松坂 賢一¹ (1東歯大 臨床病理, 2東歯大 微生物)

10月13日(日) 15:10~15:50 C会場

微生物 4 座長：田中 芳彦（福歯大 感染生物）

02-12 抹茶による *Porphyromonas gingivalis* に対する阻害活性のメカニズム
 ○高塚 陶巳^{1,2}, 池田 剛³, 平山 悟³, 泉福 英信², 成澤 直規¹, 中尾 龍馬² (1日大 院 生資科, 2感染研 細菌一, 3崇城大 薬)

02-13 マイコプラズマ由来リポタンパク質／リポペプチドにより誘導される生きたマクロファージからのIL-1β細胞外分泌機構
 ○佐伯 歩¹, 引頭 毅², 長谷部 晃¹, 鈴木 敏彦³, 柴田健一郎¹ (1北大 院歯 口腔分子微生物, 2朝日大 歯 口腔微生物, 3医科歯科大 院医歯 細菌感染)

02-14 松果体ホルモンメラトニンによる自然免疫系を介した炎症制御機構の解明
 ○菊池真理子^{1,2}, 桑田 啓貴², 嘉手納未季³ (1昭大 院歯 地域連携歯科, 2昭大 口腔微生物, 3昭大 障がい者歯科)

02-15 Toll様受容体 (TLR) 2 リガンドが誘導する炎症性サイトカイン産生における 4-[(methylthio) phenylthio] methanephosphonate (MPMBP) の抑制効果
 ○玉井利代子¹, 鈴木 恵子², 眞島いづみ¹, 清浦 有祐¹ (1奥羽大 歯 口腔病態解析制御, 2昭大 歯 歯科薬理)

10月13日(日) 15:50~16:20 C会場

骨・軟骨・骨代謝 4・その他 座長：笠原 正貴（東歯大 薬理）

02-16 Lamin A 遺伝子変異体の progerin の発現が骨芽細胞分化に与える影響
 ○高橋 富久, 大橋 晶子, 二宮 禎 (日大 歯 解剖I)

O2-17	マクロファージの細菌性炎症応答制御における Lipin2 の役割 ○綿引 麻美 ^{1,2} , 清水 康平 ² , 星川 聖良 ^{2,3} , 千葉 満生 ^{2,3} , 福本 敏 ^{2,3} , 江草 宏 ^{1,2} , 犬塚 博之 ² (¹東北大 院歯分子・再生歯科補綴, ²東北大 院歯 先端再生医学研究セ, ³東北大 院歯 小児歯)
O2-18	オステオカルシンの代謝改善効果における GLP-1 受容体シグナルの役割 ○溝上 顕子 ¹ , 向井 悟 ^{1,2} , 竹内 弘 ³ , 自見英治郎 ^{1,2} , 平田 雅人 ⁴ (¹九大 院歯 OBT 研究セ, ²九大 院歯 口腔細胞工学, ³九歯大 口腔応用薬理, ⁴福歯大 歯)

10月13日(日) 13:20~13:50 D会場

微生物1・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：吉田 明弘（松歯大 口腔細菌）

O2-19	インフルエンザ感染による GP96 シヤペロンの活性化は肺炎球菌の肺胞上皮細胞への付着を亢進させる ○住友 倫子, 中田 匡宣, 山口 雅也, 川端 重忠 (阪大 院歯 口腔細菌)
O2-20	<i>Fusobacterium nucleatum</i> 感染によるマスト細胞からの細胞外トラップ産生と炎症誘導 ○多田 浩之 ¹ , 西岡 貴志 ² , 松下 健二 ³ , 菅原 俊二 ¹ (¹東北大 院歯 口腔分子制御, ²東北大 院歯 口診, ³長寿セ 口腔疾患)
O2-21	口腔 <i>Veillonella</i> 解糖系の証明 ○眞島いづみ ¹ , 中澤 太 ² , 玉井利代子 ¹ , 清浦 有祐 ¹ (¹奥羽大 歯 口腔病態解析制御, ²インドネシア大 歯 口腔生物)

10月13日(日) 13:50~14:30 D会場

微生物2・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：大原 直也（岡大 院医歯薬 口腔微生物）

O2-22	ナイシン高度耐性 MRSA の分離と耐性メカニズムの解明 ○松尾 (川田) 美樹 ¹ , 渡邊 温子 ^{1,2} , 小松澤 均 ³ (¹鹿大 院医歯 口腔微生物, ²鹿大 院医歯 歯科矯正, ³広大 院医細菌)
O2-23	9型分泌機構 (T9SS) のカーゴタンパク質 PorA は、二成分制御系 PorXY および ECF シグマ因子 SigP の上流で T9SS 発現の調節因子として作用する ○中山 浩次, 雪竹 英治, 庄子 幹郎, 佐藤 啓子, 内藤真理子 (長大 院医歯薬 微生物)
O2-24	亜硝酸イオンが <i>Streptococcus mutans</i> に及ぼす影響 ○村上 圭史, 藤猪 英樹 (徳大 院医歯薬 口腔微生物)
O2-25	<i>Streptococcus mutans</i> の病原因子調節遺伝子が GTF 依存的 Membrane vesicles に与える影響 ○中村 知世 ¹ , 岩淵 佑介 ² , 成澤 直規 ¹ , 中尾 龍馬 ² , 泉福 英信 ² (¹日大 院 生資料, ²感染研 細菌一)

10月13日(日) 14:30~15:00 D会場

微生物3・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：小松澤 均（広大 院医 細菌）

O2-26	血清型 M18 型 <i>Streptococcus pyogenes</i> の <i>nra</i> 遺伝子に存在するナンセンス変異への点変異導入は温度依存性の線毛産生を誘導する ○李 怡萱 ¹ , 中田 匡宣 ¹ , 住友 倫子 ¹ , 広瀬雄二郎 ¹ , 竹村 萌 ¹ , 山口 雅也 ¹ , 岡橋 暢夫 ² , 川端 重忠 ¹ (¹阪大院歯 口腔細菌, ²阪大 院歯 口腔科学フロンティアセ)
O2-27	<i>Streptococcus pyogenes</i> は低グルコース環境においてアルギニン代謝依存的に遺伝子発現を変動させる ○広瀬雄二郎, 山口 雅也, 花田 知己, 住友 倫子, 中田 匡宣, 川端 重忠 (阪大 院歯 口腔細菌)
O2-28	緑茶カテキン EGCG は <i>Streptococcus mutans</i> の酸産生を抑制し菌体凝集を促進する ○Han Sili ^{1,2} , 安彦 友希 ¹ , 鷲尾 純平 ¹ , Luo Yufang ^{1,3} , Zhang Linglin ² , 高橋 信博 ¹ (¹東北大 院歯 口腔生化, ²四川大 華西口腔医学院, ³福建医科大 口腔医学院)

10月13日(日) 15:00~15:20 D会場

上皮組織・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 座長：菊池憲一郎（日歯大 解剖Ⅱ）

O2-29	ミドリフグの棘の観察 ○菊池 布恵, 石川 昂, 北村 啓, 山本 仁 (東歯大 組織・発生)
--------------	--

O2-31

口腔扁平上皮癌細胞におけるアセチル CoA カルボキシラーゼの役割
○伊藤 元貴^{1,2}, 高木 律男², 照沼 美穂¹ (新潟大 院医歯 口腔生化学, ²新潟大 院医歯 顎顔面口腔外科)

10月13日(日) 15:30~16:00 D会場

神経1..... 座長:筒井 健夫(日歯大 生命歯 薬理)

O2-32

咬合不正による認知機能の低下作用
○前芝 宗尚^{1,2}, 鍛冶屋 浩^{1,3}, 堤 貴司², 後藤加寿子⁴, 大野 純¹ (福歯大 再生医研究セ, ²福歯大 咬合修復, ³福歯大 細胞分子生物, ⁴岡岡医短大 歯科衛生)

O2-33

眼窩下神経損傷後に発症する顔面部機械アロディニアに対する Insulin-like growth factor-1 の役割
○菅原 詩織¹, 篠田 雅路², 岩田 幸一² (医科歯科大 院医歯 歯科心身医学, ²日大 歯 生理)

O2-34

ヒト歯性幹細胞は成体マウス脳スライスにおける神経新生促進作用及び酸化ストレスによる細胞死に対する防御作用
○肖 黎, 佐伯 周子, 井出 良治(日歯大 生命歯 薬理)

10月13日(日) 16:00~16:30 D会場

神経2..... 座長:吉田 篤(阪大 口腔解剖二)

O2-35

頸部と上肢の筋紡錘に生ずる固有感覚を伝達する外側楔状束核から視床への投射
○上村 夢, 佐藤 文彦, 古田 貴寛, 大原 春香, 堤 友美, 池之上悦子, 吉田 篤(阪大 院歯 口腔解剖2)

O2-36

慢性間歇的低酸素負荷によるラット口腔顔面領域における体性感覚の変調
○岸本 沙樹^{1,2}, 片桐 綾乃², 大山口藍子¹, 丹羽 均¹, 加藤 隆史² (阪大 院歯 麻酔, ²阪大 院歯 口腔生理)

O2-37

機械刺激を負荷した歯根膜線維芽細胞から産生した Wnt5a による軸索伸長作用メカニズム
○高橋かおり, 吉田 卓史, 若森 実(東北大 院歯 口腔生物 歯科薬理)

10月13日(日) 13:20~13:50 E会場

発生・再生1..... 座長:本田 雅規(愛院大 歯 口腔解剖)

O2-38

G タンパク質共役型受容体 Gpr115 はエナメル芽細胞における炭酸脱水素酵素の発現を制御しエナメル質形成に関与する
○千葉 雄太¹, 齋藤 幹¹, 吉崎 恵悟², 福本 敏^{1,3} (東北大 院歯 小児歯, ²九大 院歯 矯正, ³九大 院歯 小児口腔)

O2-39

p130Cas のエナメル質成熟過程における役割
○井上 茜¹, 中富 千尋², 中富 満城³, 進 正史⁴, 岡部 幸司⁴, 大島 勇人⁵, 松田 美穂¹, 自見英治郎¹ (九大 院歯 口腔細胞工学, ²九歯大 分子情報生化学, ³九歯大 解剖, ⁴福歯大 細胞生理, ⁵新潟大 院医歯 硬組織形態)

O2-40

GONAD 法を用いたゲノム編集スモールタグノックインマウス作製による脳・顔面発生の解析: 標的トランスジェニックの不必要の方法
○青戸 一司¹, 高林 秀次², 宮崎 岳大¹, 才津 浩智¹ (浜松医大 医 医化学, ²浜松医大 医用動物資源)

10月13日(日) 13:50~14:20 E会場

発生・再生2..... 座長:大島 勇人(新潟大 院医歯 硬組織形態)

O2-41

米発酵エキスが象牙芽細胞様細胞(KN-3)の分化におよぼす影響について
○岡本圭一郎^{1,2}, 柿原 嘉人^{2,3}, サントレイ³, 鷲尾 絢子⁴, 北村 知昭⁴, 山村 健介¹, 佐伯万騎男³ (新潟大 院医歯 口腔生理, ²新潟大 日本酒学セ, ³新潟大 院医歯 歯科薬理, ⁴九歯大 口腔保存治療)

O2-42

萌出後マウス臼歯の歯髄における象牙質形成関連因子の発現解析
○神尾 強司¹, 守田 剛¹, 角田 佳折¹, 湯本 浩通², 馬場 麻人¹ (徳大 院医歯薬 顎顔面形態, ²徳大 院医歯薬 歯周歯内)

O2-43

シングルセル分散法で培養したヒト iPS 細胞から上皮細胞への分化誘導法の確立
○普天間 拓, 鳥海 拓, 本田 雅規(愛院大 歯 口腔解剖)

10月13日(日) 14:20~15:00 E会場

腫瘍1 座長: 添野 雄一 (日歯大 病理)

O2-44	PRIP regulates talin1 dimerization by binding to its dimerization domain, and controls fibronectin/integrin-mediated cell adhesion. ○浅野 智志 ¹ , 兼松 隆 ^{1,2} (1) 広大院医 細胞分子薬理, (2) 九大 院歯 口腔常態制御)
O2-45	Ets ファミリー分子による癌細胞悪性転化機構 ○斉藤 正夫 (山梨大 院医 生化)
O2-46	口腔扁平上皮癌細胞における化学ストレスによる JAK/STAT 系を介した PD-L2 発現 ○首藤 俊一 ^{1,2} , 鍛冶屋 浩 ¹ , 進 正史 ¹ , 岡本富士雄 ¹ , 平木 昭光 ² , 岡部 幸司 ¹ (1) 福歯大 細胞分子生物, (2) 福歯大 口腔・顎顔面外科)
O2-47	Pontin/Reptin complex は, リボソーム合成関連因子 HEATR1 を安定化することで口腔扁平上皮癌進展に寄与する ○中村 彬彦 ¹ , 木口 哲郎 ¹ , 船山 昭典 ² , 柿原 嘉人 ¹ , 佐伯万騎男 ¹ (1) 新潟大 院医歯 歯科薬理, (2) 新潟大 院医歯 組織再建口外)

10月13日(日) 15:00~15:40 E会場

腫瘍2 座長: 松坂 賢一 (東歯大 臨床検査病理)

O2-48	4NQO 発癌モデルを用いた舌癌発生過程における血管の解析 ○宇佐美 悠, 白銀陽一郎, 廣瀬 勝俊, 佐藤 淳, 豊澤 悟 (阪大 院歯 口腔病理)
O2-49	骨基質に貯蔵された miR-125b は溶骨性骨転移を抑制する ○Sarmin Nushrat, 南崎 朋子, 吉子 裕二 (広大院医歯薬保 硬組織代謝生物)
O2-50	テロメア構造結合性新規化合物の抗癌効果の検討 ○福田 晃 ¹ , 東 泉 ² , 大住 伴子 ² , 竹内 弘 ² (1) 九歯大 顎顔面外科, (2) 九歯大 口腔応用薬理)
O2-51	新しい腫瘍オルガノイド多元評価システムの開発 ○十川チハル ¹ , 江口 傑徳 ^{1,4} , 大山 和美 ¹ , 奥舎 有加 ¹ , 中野 敬介 ² , 十川 紀夫 ³ , 岡元 邦彰 ¹ (1) 岡大 院医歯薬 歯科薬理, (2) 岡大 院医歯薬 口腔病理, (3) 松歯大 歯 歯科薬理, (4) 岡大 歯 先端領域研究セ)

10月13日(日) 15:40~16:20 E会場

歯・歯髄1 座長: 橋本 貞充 (東歯大 生物)

O2-52	下顎第二大臼歯における溝型・咬頭数と歯冠サイズの関係 ○近藤信太郎 ¹ , 真鍋 義孝 ² (1) 日大松戸歯 解剖, (2) 長大 院医歯薬 顎顔面解剖)
O2-53	歯周病で抜去した上下顎第二大臼歯歯根の癒合部位の分類と癒合歯根の溝の深さ ○加藤 彰子 ¹ , 三谷 章雄 ² , 本田 雅規 ¹ (1) 愛院大 歯 口腔解剖, (2) 愛院大 歯 歯周病)
O2-54	ラット歯髄細胞の石灰化物形成における糖化最終産物 (AGEs) の影響 ○杉山 敬多 ¹ , 三浦 治郎 ¹ , 高島 葵 ¹ , 清水 真人 ¹ , 萱島 浩輝 ² (1) 阪大 院歯 総診, (2) 阪大 院歯 クラウンブリッジ)
O2-55	肥満型2型糖尿病モデル TSOD マウスにおける口腔組織の経時的変化 ○依田 浩子, 大島 勇人 (新潟大 院医歯 硬組織形態)

10月14日(月) 9:30~10:20 D会場

歯・歯髄2 座長: 岡田 裕之 (日大松戸歯 組織) 村松 敬 (東歯大 保存修復)

O3-01	古典的 Wnt シグナルによるデンティンブリッジ形成機構の解析 ○原 弥革力, 堀部 寛治, 平賀 徹, 中村 浩彰 (松歯大 口腔解剖)
--------------	--

03-02	<p>象牙芽細胞の枯渇は象牙質形成を誘導する ○趙麗娟¹, 荒井敦², 宇田川信之³, 細矢明宏⁴, 岡部幸司⁵, 進正史⁵, 李憲起⁶, 小林泰浩¹, 高橋直之¹, 溝口利英⁷ (1松歯大 研究所, 2松歯大 矯正, 3松歯大 口腔生化, 4北医療大 歯組織, 5福歯大 細胞生理, 6松歯大 顎顔面外, 7東歯大 口腔科学研究セ)</p>
03-03	<p>破歯/破骨細胞形成を負に制御する歯髄環境の解析 ○西田大輔¹, 荒井敦², 宇田川信之³, 中村美どり³, 堀部寛治⁴, 小林泰浩⁵, 高橋直之⁵, 溝口利英¹ (1東歯大 口腔科学研究セ, 2松歯大 矯正, 3松歯大 口腔生化, 4松歯大 口腔解剖, 5松歯大 総歯研)</p>
03-04	<p><i>Parp-1</i>^{-/-}老化マウスにおける切歯の異形成について ○藤原久子^{1,2,3}, 野崎中成^{1,4}, 井角麻佑⁵, 下田信治⁶, 濱田良樹², 益谷美都子^{1,5} (1国立がんセ 研, 2鶴大 歯口腔顎顔面外科, 3鶴短大 歯衛科, 4大歯大 歯薬理, 5長大 院医歯薬 フロンティア生命科学, 6鶴大 歯口腔解剖)</p>
03-05	<p>象牙質形成におけるゴルジ体キナーゼ Fam20C の役割について ○浪花耕平^{1,2}, 廣瀬勝俊¹, 宇佐美悠¹, 大家香織¹, 佐藤淳¹, 小守壽文³, 豊澤悟¹ (1阪大 院歯 口腔病理, 2阪大 院歯 口外 2, 3長大 院医歯薬 細胞生物)</p>

10月14日(月) 10:20~11:30 D会場

発生・再生 3, その他 座長: 磯川桂太郎 (日大 解剖Ⅱ)
 大峽 淳 (新潟大 口腔解剖)

03-06	<p>骨粗鬆症モデルマウスにおける間葉系幹細胞に由来する細胞外小胞の影響 ○村田早羅^{1,2}, 園田聡一郎¹, 上原範久¹, 久本由香里¹, 高橋一郎¹, 久木田敏夫¹, 山座孝義¹ (1九大 院歯 分子口腔解剖, 2九大 院歯 矯正)</p>
03-07	<p>胆道閉鎖症患児に対する自家乳歯幹細胞移植治療を目指した基礎研究 ○園田聡一郎, 村田早羅, 久本由香里, 上原範久, 久木田敏夫, 山座孝義 (九大 院歯 分子口腔解剖)</p>
03-08	<p>頭蓋顎顔面の形態形成におけるヘパラン硫酸の役割 ○中西祐一郎¹, 犬伏俊博¹, 松本嘉寛², 山口祐³, 山城隆¹ (1阪大 院歯 矯正, 2九大 院医 整形外科, 3サンフォード バーナム プレビス メディカル ディスカバリー インスティテュート ジェネティック ディジーズ プログラム)</p>
03-09	<p>生体材料埋入時に出現する老化細胞が骨再生に与える影響 ○本田義知¹, 黄安祺², 橋本正則³, 岩崎剣吾¹, 馬場俊輔² (1大歯大 中歯研, 2大歯大 口腔インプラント, 3大歯大 医療保健 口腔保健)</p>
03-10	<p>機械学習による残存歯認識モデル開発と学習過程の可視化による解析 ○清野雄多, 大島勇人 (新潟大 院医歯 口腔生命科学)</p>
03-11	<p>加齢およびエストロゲンシグナル欠乏は唾液腺における老化関連T細胞集積を促進する ○黒澤実愛, 古川匡恵, 松下健二, 四釜洋介 (長寿研 口腔疾患)</p>
02-30	<p>新規遺伝子抑制法を用いた口蓋形成の制御機構解明への新たな取り組み ○犬伏俊博¹, 廣瀬匠¹, 吉田尚起¹, 黒坂寛¹, 杉山弘², 山城隆¹ (1阪大 院歯 矯正, 2京大 院理化学)</p>

■ 一般演題 (ポスター発表)

10月12日(土) 17:50~18:40 ポスター会場

解剖学 (モリタ賞応募)

P1-01	携帯型 X 線発生装置使用時の水晶体・手指被曝に関する研究 ○岩脇 淳志 ¹ , 大高 祐聖 ² , 浅見 瑠璃 ¹ , 石井 猛 ¹ , 坂 英樹 ^{1,3} (明海大 歯 病態診断治療 歯科法医, ² 明海大 歯 病態診断治療 放射線, ³ 明海大 歯 歯科法医学セ)
P1-02	胆道閉鎖症患児に対する自家乳歯幹細胞移植治療を目指した基礎研究 ○園田聡一郎, 村田 早羅, 久木由香里, 上原 範久, 久木田敏夫, 山座 孝義 (九大 院歯 分子口腔解剖)
P1-03	胎生期マウスの二次口蓋におけるライブ観察法の確立 ○長坂 新 ¹ , 崎山 浩司 ¹ , 坂東 康彦 ¹ , 小笠原悠大 ^{1,2} , 小野澤 豪 ^{1,3} , 天野 修 ¹ (明海大 歯 解剖, ² 明海大 歯 口腔顔面外科 2, ³ 明海大 歯 口腔顔面外科 1)
P1-04	骨格筋再生過程における M2 マクロファージおよび Tcf4 陽性線維芽細胞の局在に関する検索 ○小川 雄大 ¹ , 是澤 智久 ¹ , 橋本 圭史 ¹ , 橋本 千明 ¹ , 山本悠太郎 ¹ , 廣内 英智 ¹ , 山本 将仁 ¹ , 松永 智 ¹ , 佐藤 正樹 ¹ , 阿部 伸一 ¹ (東歯大 解剖, ² 東歯大 生物)
P1-05	骨粗鬆症モデルマウスにおける間葉系幹細胞に由来する細胞外小胞の影響 ○村田 早羅 ^{1,2} , 園田聡一郎 ¹ , 上原 範久 ¹ , 久木由香里 ¹ , 高橋 一郎 ² , 久木田敏夫 ¹ , 山座 孝義 ¹ (九大 院歯 分子口腔解剖, ² 九大 院歯 矯正)
P1-06	マイクロ CT を用いた上顎小臼歯の年齢推定法の精度の比較 ○浅見 瑠璃 ¹ , 網干 博文 ² , 岩脇 淳志 ¹ , 石井 猛 ¹ , 大高 祐聖 ³ , 小高 研人 ⁴ , 阿部 伸一 ⁵ , 坂 英樹 ^{1,6} (明海大 歯 歯科法医, ² 日大 歯 法医, ³ 明海大 歯 放射線, ⁴ 東歯大 放射線, ⁵ 東歯大 解剖, ⁶ 明海大 歯科法医学セ)
P1-07	顎顔面再建手術後の歯科インプラント埋入を想定した日本人腭骨の形態学的基礎研究 ○廣内 英智, 小川 雄大, 橋本 千明, 高木 貴博, 山本悠太郎, 松永 智, 阿部 伸一 (東歯大 解剖)
P1-08	舌癌と High mobility group box 1 (HMGB1) の関係 ○小笠原悠大 ¹ , 崎山 浩司 ¹ , 小野澤 豪 ¹ , 長坂 新 ¹ , 坂東 康彦 ¹ , 天野 修 ¹ (明海大 院歯 解剖, ² 明海大 院歯 口腔外科 2)
P1-09	介護施設入所者における唾液中の認知機能マーカーの探索 ○東 雅啓 ¹ , 猿田 樹理 ¹ , 山本 裕子 ² , 坂口和歌子 ¹ , 松尾 雅斗 ¹ , 槻木 恵一 ¹ (神歯大 院歯 口腔科学, ² 神歯大 短期 歯科衛生)
P1-10	C57BL/6J マウスにおける三叉神経中脳路核の神経変性に対する上顎臼歯抜歯の影響 ○Dhar Ashis, 倉本恵梨子, 岩井 治樹, 山中 淳之, 後藤 哲哉 (鹿大 院医歯 歯科機能形態)
P1-11	ウシの臼歯に見られた新規型の異常歯である分割歯の一例報告 ○小寺 稔 ¹ , 千葉 敏江 ² (鶴大 歯 解剖 II, ² 鶴大 歯 解剖 I)
P1-12	機械学習による残存歯認識モデル開発と学習過程の可視化による解析 ○清野 雄多, 大島 勇人 (新潟大 院医歯 口腔生命科学)
P1-13	マウス大腿骨軟骨における TRPV4 の発現 ○田原 愛理 ¹ , 高 イキ ¹ , 曹 愛琳 ^{1,2} , 大崎 康吉 ¹ , 本田 裕子 ¹ , 内野 加穂 ¹ , 西田 寛汰 ¹ , 城戸 瑞穂 ^{1,2} (佐賀大 医 組織・神経解剖, ² 九大 院歯 口腔病理)

10月12日(土) 17:50~18:40 ポスター会場

生化学 (モリタ賞応募)

P1-14	マウス口腔扁平上皮癌細胞 (OSCC) 株 Sq1979 の IL-1 α 産生能および免疫抑制活性に対する低血清および低酸素条件の影響 ○松並 晃弘 ¹ , 神谷 真子 ^{2,3} , 川木 晴美 ² , 高山 英次 ² , 梅村 直己 ² , 上野 恭平 ² , 安藤 恵 ² , 村松 泰徳 ¹ , 住友伸一郎 ¹ , 近藤 信夫 ² (朝日大 歯 口外, ² 朝日大 歯 口腔生化, ³ 朝日大 営 化学)
P1-15	KLF5 遺伝子発現制御機構の解析 ○富山 希美 (日歯大 生命歯 生化)
P1-16	エナメル質形成過程における TGF- β アイソフォームについて ○千葉理紗子, 唐木田丈夫, 山本 竜司, 山越 康雄 (鶴大 歯 分子生化)
P1-17	再生医療における MSC の代替細胞としての HUCPVC ○野々山 駿 ¹ , 唐木田丈夫 ² , 山本 竜司 ² , 長野 孝俊 ¹ , 山越 康雄 ² , 五味 一博 ¹ (鶴大 歯 歯周病, ² 鶴大 歯 分子生化)

P1-18	(取り下げ)
P1-19	温熱による癌細胞の糖代謝活性への影響 ○小林 ゆり, 鷲尾 純平, 篠原 優太, 高橋 信博 (東北大 院歯 口腔生化)
P1-20	ゾレドロン酸は IRF8 の発現誘導を介して末梢血単球の破骨細胞分化を抑制する ○瀧本 玲子 ¹ , 田中 元博 ^{1,2} , 笹 清人 ² , 山田 篤 ² , 宮本 洋一 ² , 須澤 徹夫 ² , 吉村健太郎 ² , 上條竜太郎 ² (昭大 歯 顎顔面口腔外科, ² 昭大 歯 口腔生化)
P1-21	Notch エフェクター分子 Hes1 の BMP9 誘導性骨芽細胞分化における発現機構および機能的意義の解明 ○成 昌典 ^{1,2} , 大西 智和 ² , 千葉 紀香 ² , 松口 徹也 ² (鹿大 院医歯 口腔顎顔面外科, ² 鹿大 院医歯 口腔生化)
P1-22	新規 NIK 阻害剤 Compound33 による破骨細胞分化・機能抑制効果の検討 ○高倉 那奈 ^{1,2} , 松田 美穂 ¹ , 日浦 史隆 ¹ , 北村 知昭 ² , 自見英治郎 ^{1,3} (九大 院歯 口腔細胞工学, ² 九歯大 保存, ³ 九大 OBT 研究セ)
P1-23	MAPK シグナル伝達経路を介した S-PRG フィラー抽出液由来の多機能イオンの評価 ○石樽 大嗣 ¹ , 川木 晴美 ² , 上野 恭平 ² , 清水翔二郎 ¹ , 梅村 直己 ² , 神谷 真子 ³ , 高山 英次 ² , 二階堂 徹 ¹ , 堀田 正人 ⁴ , 近藤 信夫 ² (朝日大 歯 保存, ² 朝日大 歯 口腔生化, ³ 朝日大 営 化学, ⁴ 朝日大)
P1-24	ブラジル産グリーンプロポリス抽出液がヒト初代培養細胞の動態におよぼす作用の解析 ○鶴田はねみ ¹ , 川木 晴美 ² , 池野久美子 ³ , 中村源次郎 ³ , 梅村 直己 ² , 神谷 真子 ⁴ , 高山 英次 ² , 二階堂 徹 ¹ , 堀田 正人 ⁵ , 近藤 信夫 ² (朝日大 歯 保存, ² 朝日大 歯 口腔生化, ³ 株式会社秋田屋本店, ⁴ 朝日大 営 化学, ⁵ 朝日大)
P1-25	ゼオライトによる陽イオン交換後の S-PRG フィラー抽出液の評価 ○上野 恭平 ¹ , 川木 晴美 ¹ , 巽 勇介 ² , 井殿 泰鳳 ² , 梅村 直己 ¹ , 神谷 真子 ³ , 高山 英次 ¹ , 二階堂 徹 ² , 堀田 正人 ⁴ , 近藤 信夫 ¹ (朝日大 歯 口腔生化, ² 朝日大 歯 保存, ³ 朝日大 営 化学, ⁴ 朝日大)

10月12日(土) 17:50~18:40 ポスター会場

生理学 (モリタ賞応募)

P1-26	デクスメトミジンが成体ラットの呼吸循環動態に与える影響について ○北島躍一郎, 佐伯 周子, 橋爪 那奈, 井出 良治, 永倉由加里, 今井 敏夫 (日歯大 生命歯 生理)
P1-27	ヒノキチオールによる TRP チャネル活性化を介した Ca ²⁺ 応答 ○岡本 浩明 ¹ , 梶田 恵介 ¹ , 矢野 博子 ² (小林製薬 ヘルスケア事業 研究開発, ² 小林製薬 中央研 基盤研究)
P1-28	セメント芽細胞における Ca ²⁺ 活性化 K ⁺ チャネル発現 ○鎌田 聡仁 ^{1,2} , 東川明日香 ² , 木村 麻記 ² , 井上 博之 ³ , 大山 定男 ² , 大房 航 ² , 澁川 義幸 ² , 山下秀一郎 ¹ (東歯大 パーシャル補綴, ² 東歯大 生理, ³ 東歯大 麻酔)
P1-29	トラネキサム酸による悪心誘発機序における最後野の役割 ○藤田 麻由, 平井 喜幸, 久留 和成, 船橋 誠 (北大 院歯 口腔生理)
P1-30	慢性間歇的低酸素負荷によるラット口腔顔面領域における体性感覚の変調 ○岸本 沙樹 ^{1,2} , 片桐 綾乃 ² , 大山口藍子 ¹ , 丹羽 均 ¹ , 加藤 隆史 ² (阪大 院歯 麻酔, ² 阪大 院歯 口腔生理)
P1-31	嚥下関連筋支配神経の活動に対するイミダプリルの効果 ○守谷 崇 ^{1,2} , 中山希世美 ¹ , 中村 史朗 ¹ , 望月 文子 ¹ , 壇辻 昌典 ¹ , 井上 富雄 ¹ (昭大 歯 口腔生理, ² 昭大 歯 口腔外科)
P1-32	ラット線条体へのドパミン受容体拮抗薬投与が嚥下反射誘発に及ぼす影響 ○辻 光順, 高橋 睦, 佐藤 義英 (日歯大新潟 生理)
P1-33	新生児期外傷性ストレスに起因する成体期外傷性疼痛の増強には CCL2 ケモカインが関与する ○相馬 久実 ^{1,2} , 篠田 雅路 ² , 白川 哲夫 ¹ , 岩田 幸一 ² (日大 歯 小児歯, ² 日大 歯 生理)
P1-34	ヒト象牙芽細胞における機械刺激誘発性細胞内遊離 Ca ²⁺ 濃度増加 ○松永真由美 ^{1,2} , 木村 麻記 ² , 戸田はる菜 ² , 大山 定男 ² , 大房 航 ² , 東川明日香 ² , 澁川 義幸 ² , 一戸 達也 ¹ (東歯大 麻酔, ² 東歯大 生理)
P1-35	喘息モデルマウスの機械的アロディニアと TRPV1 ○曹 愛琳 ^{1,2} , 高 イキ ¹ , 吉本 怜子 ^{1,2} , 合島怜央 ³ , 大崎 康吉 ^{1,2} , 本田 裕子 ¹ , 内野 加穂 ¹ , 西田 寛汰 ¹ , 田原 愛理 ¹ , 城戸 瑞穂 ^{1,2} (佐賀大 医 組織・神経解剖, ² 九大 院歯 口腔病理, ³ 佐賀大 医 歯科口腔外科)
P1-36	IFN- γ シグナルを介したグリア細胞の活性化は口腔顔面領域の神経障害性疼痛増強に関与する ○浅野早哉香 ^{1,2} , 菅原 詩織 ^{2,3} , 岡田 明子 ¹ , 篠田 雅路 ² , 岩田 幸一 ² , 今村 佳樹 ¹ (日大 歯 口腔診断, ² 日大 歯 生理, ³ 医科歯科大 院医歯 歯科心身医学)
P1-37	三叉神経を介する体性感覚入力と迷走神経に由来する内臓求心性入力の唾液腺血流に対する異なる作用 ○ラマダニラトナ, 三戸 浩平, 佐藤 寿哉, 石井 久淑 (北医療大 歯 生理)

P1-38	眼窩下神経損傷後に発症する顔面部機械アロディニアに対する Insulin-like growth factor-1 の役割 ○菅原 詩織 ¹ , 篠田 雅路 ² , 岩田 幸一 ² (医科歯科大 院医歯 歯科心身医学, ² 日大 歯 生理)
P1-39	ラット三叉神経節ニューロンにおける P2X7 受容体-pannexin-1 チャンネル-P2X4 受容体相互作用の電気生理学的機能検索 ○井上 博之 ¹ , 黒田 英孝 ² , 石川 昂 ³ , 大山 定男 ⁴ , 東川明日香 ⁴ , 木村 麻記 ⁴ , 澁川 義幸 ⁴ , 一戸 達也 ¹ (東歯大 麻酔, ² 神歯大 院歯 全身管理医歯, ³ 東歯大 組織発生, ⁴ 東歯大 生理)
P1-40	ラット扁平上皮癌細胞の機械感受性イオンチャンネル ○石崎 元樹 ^{1,2} , 大山 定男 ¹ , 大房 航 ¹ , 東川明日香 ¹ , 木村 麻記 ¹ , 澁川 義幸 ¹ , 一戸 達也 ² (東歯大 生理, ² 東歯大 歯科麻酔)
P1-41	ラット脳幹部の呼吸循環調節領域におけるイミダゾリン 1 受容体の局在性に関する免疫組織学的検討 ○永倉由加里, 井出 良治, 佐伯 周子, 北島躍一郎, 橋爪 那奈, 今井 敏夫 (日歯大 生命歯 生理)
P1-42	三叉神経節ニューロンの機械刺激誘発性細胞間コミュニケーション ○矢崎 龍彦 ^{1,2} , 大山 定男 ¹ , 大房 航 ¹ , 戸田はる菜 ¹ , 黒田 英孝 ³ , 東川明日香 ¹ , 木村 麻記 ¹ , 澁川 義幸 ¹ , 一戸 達也 ² (東歯大 生理, ² 東歯大 麻酔, ³ 神歯大 院歯 全身管理医歯)
P1-43	高残留性軟膏基剤を用いたステロイドの口内炎に対する効果 ○浪花 真子 ^{1,2} , 人見 涼露 ¹ , 氏原 泉 ¹ , 鹿山 武海 ³ , 松田 一成 ⁴ , 吉野 賢一 ⁵ , 小野堅太郎 ¹ (九歯大 歯 生理, ² 九歯大 口腔保健, ³ 九歯大 歯 歯周, ⁴ 第一三共ヘルスケア, ⁵ 九歯大 共通基盤教育)

10月12日(土) 17:50~18:40 ポスター会場

組織・発生学 (モリタ賞応募)

P1-44	Expression of small leucine-rich proteoglycans (SLRPs) in developing mouse molar tooth germ ○アンガンマナランディリニ, 柴田 俊一 (医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖)
P1-45	G タンパク質共役型受容体 Gpr115 はエナメル芽細胞における炭酸脱水素酵素の発現を制御しエナメル質形成に関与する ○千葉 雄太 ¹ , 齋藤 幹 ¹ , 吉崎 恵悟 ² , 福本 敏 ^{1,3} (東北大 院歯 小児歯, ² 九大 院歯 矯正, ³ 九大 院歯 小児口腔)
P1-46	新規歯科インプラント材セリア系ジルコニア・アルミナ複合体は骨類似アパタイト結晶を誘導する ○斉藤 まり, 小沼 一雄, 山本 竜司, 山越 康雄 (鶴大 歯 生化)
P1-47	骨粗鬆症モデルラットにおけるエルデカルシトール誘導性ミニモデリングの組織化学的解析 ○長谷川智香 ¹ , 山本知真也 ² , 本郷 裕美 ¹ , 坂井 貞興 ³ , 與語 健二 ³ , 網塚 憲生 ¹ (北大 院歯 硬組織, ² 自衛隊 朝霞駐屯地 歯科, ³ 中外製薬)
P1-48	骨基質に貯蔵された miR-125b は溶骨性骨転移を抑制する ○Sarmin Nushrat, 南崎 朋子, 吉子 裕二 (広大 院医歯薬保 硬組織代謝生物)
P1-49	レチノイドがケラチノサイトの角化に及ぼす影響について ○石川 翔子 ^{1,2} , 北河 憲雄 ¹ , 大谷 崇仁 ¹ , 緒方佳代子 ¹ , 稲井哲一朗 ¹ (福歯大 機能構造, ² 福歯大 矯正)
P1-50	網羅的遺伝子解析を用いた高齢マウスの下顎における細胞外マトリックス分解酵素の発現 ○影山 曜子 ^{1,2} , 中村 恵 ² , 猪狩 洋平 ¹ , 山口 哲史 ¹ , 服部 佳功 ¹ , 笹野 泰之 ² (東北大 院歯 加齢歯科, ² 東北大 院歯 顎口腔組織発生)
P1-51	Gli1 陽性歯根膜細胞は幹細胞特性を有し, 歯槽骨再生に寄与する ○Shakehin Nazmus ¹ , 細矢 明宏 ¹ , 建部 廣明 ¹ , 溝口 利英 ² , 吉羽 永子 ³ , 吉羽 邦彦 ⁴ , 中村 浩彰 ⁵ , HASAN Md Riasat ¹ , 入江 一元 ¹ (北医大 歯 組織, ² 東歯大 口科研, ³ 新潟大 院医歯 う蝕, ⁴ 新潟大 院医歯 口腔保健, ⁵ 松歯大 口腔解剖 II)
P1-52	アレルギーモデルマウスの骨代謝調節とメカノセンサーチャンネルの機能 ○高 イキ ¹ , 曹 愛琳 ^{1,2} , 吉本 怜子 ^{1,2} , 合島怜央奈 ³ , 大崎 康吉 ^{1,2} , 本田 裕子 ¹ , 内野 加穂 ¹ , 西田 寛汰 ¹ , 田原 愛理 ¹ , 城戸 瑞穂 ^{1,2} (佐賀大 医 組織・神経解剖, ² 九大 院歯 口腔病理, ³ 佐賀大 医 歯科口腔外科)
P1-53	破歯/破骨細胞形成を負に制御する歯髄環境の解析 ○西田 大輔 ¹ , 荒井 敦 ² , 宇田川信之 ³ , 中村美どり ³ , 堀部 寛治 ⁴ , 小林 泰浩 ⁵ , 高橋 直之 ⁵ , 溝口 利英 ¹ (東歯大 口腔科学研究セ, ² 松歯大 矯正, ³ 松歯大 口腔生化, ⁴ 松歯大 口腔解剖, ⁵ 松歯大 総歯研)
P1-54	骨とエナメル質形成における Rogdi の役割 ○Mitsui Silvia Naomi, 泰江 章博, 田中 栄二 (徳大 院医歯薬 顎顔面矯正)
P1-55	唾液腺の形態形成及び機能発現における p130Cas の役割 ○室屋 龍佑 ¹ , 高 靖 ¹ , 中富 千尋 ³ , 藤井 慎介 ⁴ , 清島 保 ⁴ , 自見英治郎 ^{1,3,5} (九大 院歯 口腔細胞工学, ² 九大 院歯 口腔顎顔面外科, ³ 九歯大 分子情報生化, ⁴ 九大 院歯 口腔病理, ⁵ 九大 院歯 OBT 研究セ)
P1-56	重症乳児型低ホスファターゼ症の顎骨および歯に対する TNALP 高発現遺伝子治療 ○棚瀬 稔貴 ¹ , 高橋 有希 ² , 新谷 誠康 ¹ , 笠原 正貴 ² (東歯大 小児歯, ² 東歯大 薬理)

P1-57	CLEC-2 による頭蓋冠骨芽細胞の石灰化抑制 ○高良 憲洋 ¹ , 梶原弘一郎 ² , 藤田 隆寛 ² , 坂上 竜資 ³ , 沢 禎彦 ⁴ , 小島 寛 ¹ (福歯大 成長発達 障害歯, ² 福歯大 成長発達 矯正, ³ 福歯大 口腔治療 歯周, ⁴ 岡大 院医歯薬 口腔機能解剖)
P1-58	クローニングマラッセ上皮遺残細胞の特性解析 ○Islam Syed Taufiqul, 蓑輪映里佳, 野呂 大輔, 倉重 圭史, 齊藤 正人 (北医療大 歯 小児歯)
P1-59	骨発生におけるメカノセンサーチャネルの発現と機能 ○西田 寛汰 ¹ , 高 イキ ¹ , 曹 愛琳 ^{1,2} , 田原 愛理 ¹ , 本田 裕子 ¹ , 内野 加穂 ¹ , 大崎 康吉 ¹ , 城戸 瑞穂 ^{1,2} (佐賀大 医 組織・神経解剖, ² 九大 院歯 口腔病理)

10月12日 (土) 17:50~18:40 ポスター会場

微生物学 (モリタ賞応募)

P1-60	バイオフィルム形成阻害に着目した新しい蝕予防法の開発 ○有田 (森岡) 健一, 永尾 潤一, 成田 由香, 安松香奈江, 田崎 園子, 長 環, 田中 芳彦 (福歯大 感染生物)
P1-61	肺炎球菌感染マウスに対するヒノキチオールの治療効果 ○磯野 俊仁 ^{1,2} , 永井 康介 ¹ , 土門 久哲 ¹ , 前川 知樹 ^{1,3,4} , 日吉 巧 ^{1,4} , 野村由一郎 ² , 國友 栄治 ⁵ , 寺尾 豊 ^{1,3} (新潟大 院医歯 微生物, ² 新潟大 院医歯 う蝕, ³ 新潟大 院医歯 高口セ, ⁴ 新潟大 院医歯 歯周病, ⁵ 小林製薬 中央研)
P1-62	<i>Porphyromonas gingivalis</i> の 30.1 型 CRISPR とインプラント周囲炎細菌叢の遺伝子発現の関係 ○渡辺 孝康 ¹ , 芝 多佳彦 ² , 中野 善夫 ¹ (日大 歯 化学, ² 医科歯科大 院医歯 歯周病)
P1-63	口腔カンジダ症を制御する Th17 細胞応答を誘導する T 細胞抗原探索 ○田崎 園子 ^{1,2} , 長 環 ¹ , 永尾 潤一 ¹ , 有田 (森岡) 健一 ¹ , 成田 由香 ¹ , 安松香奈江 ¹ , 小島 寛 ² , 田中 芳彦 ¹ (福歯大 機能生物化学 感染生物, ² 福歯大 成長発達 障害者歯)
P1-64	S-PRG フィラーの <i>Candida albicans</i> 病原因子の抑制効果と臨床応用の可能性 ○河野 由 ^{1,2} , 田村 宗明 ^{3,4} , 今井 健一 ^{3,4} (日大 院歯 口腔構造機能, ² 日大 歯 口外, ³ 日大 歯 細菌, ⁴ 日大 総歯研 生体防御)
P1-65	インフラマソーム活性に対するオメガ3系脂肪酸の影響 ○川野 亜希 ¹ , 有吉 渉 ¹ , 吉岡 香絵 ¹ , 山崎 亮太 ¹ , 沖永 敏則 ² (九歯大 感染分子生物, ² 大歯大 細菌)
P1-66	母体の病原性細菌感染が子の行動異常に与える影響について ○安松香奈江 ¹ , 永尾 潤一 ¹ , 有田 (森岡) 健一 ¹ , 成田 由香 ¹ , 長 環 ¹ , 城戸 寛史 ² , 田中 芳彦 ¹ (福歯大 機能生物 感染生物, ² 福歯大 咬合修復 インプラント)
P1-67	各培養条件下での ATDC5 細胞株の軟骨細胞分化における細胞内シグナルの解析 ○沖田 楓 ^{1,2} , 有吉 渉 ² , 吉岡 香絵 ² , 山崎 亮太 ² , 川野 亜希 ² , 引地 尚子 ¹ (九歯大 口腔保健, ² 九歯大 感染分子生物)
P1-68	歯周病原細菌の増殖を抑制する口腔内細菌の同定と抗菌因子の解析 ○池本梨央南 ¹ , 中村 麻衣 ¹ , 永尾 潤一 ² , 有田 (森岡) 健一 ² , 田中 芳彦 ² (福歯大 リサーチスチューデント, ² 福歯大 機能生物化学 感染生物)
P1-69	抹茶による <i>Porphyromonas gingivalis</i> に対する阻害活性のメカニズム ○高塚 絢巳 ^{1,2} , 池田 剛 ³ , 平山 悟 ² , 泉福 英信 ² , 成澤 直規 ¹ , 中尾 龍馬 ² (日大 院 生資科, ² 感染研 細菌一, ³ 崇城大 薬)
P1-70	歯周病の病態形成におけるプロバイオティクスの機能 ○梁 尚陽 ¹ , 永尾 潤一 ² , 成田 由香 ² , 有田 (森岡) 健一 ² , 安松香奈江 ² , 田崎 園子 ² , 長 環 ² , 田中 芳彦 ² (福歯大 リサーチスチューデント, ² 福歯大 機能生物化学 感染生物)
P1-71	ナイシン作用により分離したナイシン高度耐性 MRSA のビルレンスに及ぼす影響 ○渡邊 温子 ¹ , 松尾 美樹 ² , 小松澤 均 ³ (鹿大 院医歯 矯正, ² 鹿大 院医歯 口腔微生物, ³ 広大 院医歯薬保 細菌)
P1-72	<i>Treponema denticola</i> における表層病原性成分の発現調節機構の解明 ○北村友里恵 ¹ , 菊池有一郎 ² , 国分 栄仁 ² , 齋藤 淳 ¹ , 石原 和幸 ² (東歯大 歯周, ² 東歯大 微生物)
P1-73	<i>Streptococcus mutans</i> の病原因子調節遺伝子が GTF 依存的 Membrane vesicles に与える影響 ○中村 知世 ^{1,2} , 岩淵 佑介 ² , 成澤 直規 ¹ , 中尾 龍馬 ² , 泉福 英信 ² (日大 院 生資科, ² 感染研 細菌一)
P1-74	<i>P. gingivalis</i> LPS 誘導性炎症性サイトカイン産生と RANKL 誘導性破骨細胞分化に対するアーティチョーク由来シナロピクリンの抑制効果 ○渡辺 典久 ^{1,2} , 横江 将 ^{1,2} , 佐藤 秀一 ¹ , 今井 健一 ² (日大 歯 保存 III, ² 日大 歯 細菌)
P1-75	<i>Porphyromonas gingivalis</i> による TLR4-TRIF 経路依存性インフラマソーム活性化機構の解明 ○岡野 徳壽, 鈴木 敏彦 (医科歯科大 院医歯 細菌感染)
P1-76	PCR-RFLP 法を用いた口腔内細菌叢解析 (プロファイリング) システム ○佐野 拓人 ¹ , 涌井 杏奈 ¹ , 八巻 恵子 ² , 鷲尾 純平 ² , 高橋 信博 ² , 佐藤 拓一 ¹ (新潟大 院保 検査技術 臨床化学, ² 東北大 院歯 口腔生)

病理学 (モリタ賞応募)

P1-77	骨髄炎感受性の新規遺伝的リスク要因としての HLA/KIR 多様性の解析 ○矢原 寛子 ¹ , 依田 哲也 ² (1学振 特別研究員, 2医科歯科大 顎顔面外)
P1-78	加齢およびエストロゲンシグナル欠乏は唾液腺における老化関連 T 細胞集積を促進する ○黒澤 実愛, 古川 匡恵, 松下 健二, 四釜 洋介 (長寿研 口腔疾患)
P1-79	EBV 関連悪性リンパ腫モデルマウスの作製とヒトリンパ腫との組織レベルでの比較検討 ○小池 亮 ¹ , 今井 健一 ² (1日大 歯 口腔外科, 2日大 歯 細菌)
P1-80	アルテピリン C 長期添加によるヒト歯根膜線維芽細胞でのゲノムワイド解析 ○高井 理衣 ¹ , 植原 治 ² , 吉田 光希 ³ , 佐藤 惇 ³ , 安彦 善裕 ³ , 太田 亨 ¹ (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)
P1-81	高転移臓器における転移促進的微小環境の性質の検討 ○河合 穂高 ¹ , 信長ひかり ¹ , May Wathone Oo ¹ , 吉田 沙織 ¹ , 大森 悠加 ¹ , 高畠 清文 ¹ , 中野 敬介 ¹ , 辻極 秀次 ² , 長塚 仁 ¹ (1岡大 医歯薬 口腔病理, 2岡山理大 理 臨生科 組織病態)

薬理学 (モリタ賞応募)

P1-82	雄性 NOD マウスにおける涙腺炎発症と涙液分泌低下の関連性 ○大野 雄太, 佐藤慶太郎, 柏保 正典 (朝日大 歯 薬理)
P1-83	脂質異常症モデルマウスは切歯象牙質の肥厚と骨量減少を呈する ○黒滝優太郎 ^{1,2,4} , 坂井 信裕 ^{2,4} , 佐藤ゆり絵 ^{2,3,4} , 唐川亜希子 ^{2,4} , 茶谷 昌弘 ^{2,4} , 古賀 貴子 ^{2,4} , 高見 正道 ^{2,4} (1昭大 歯 地域連携歯科, 2昭大 歯 歯科薬理, 3昭大 歯 障害者歯, 4昭大 薬理科学研究セ)
P1-84	レミフェンタニル投与下における口腔組織血流量と口腔組織酸素分圧の変化—セボフルランとデスフルランの比較— ○小林 彩香 ¹ , 笠原 正貴 ² , 一戸 達也 ³ (1東歯大 院歯 麻酔, 2東歯大 薬理, 3東歯大 麻酔)
P1-85	プロポフォールによる意識消失時の大脳皮質における神経活動の変化 ○梶原 美絵 ^{1,2} , 小林 真之 ² (1日大 歯 麻酔, 2日大 歯 薬理)
P1-86	テロメア構造結合性新規化合物の抗癌効果の検討 ○福田 晃 ¹ , 東 泉 ² , 大住 伴子 ² , 竹内 弘 ² (1九歯大 顎顔面外科, 2九歯大 口腔応用薬理)
P1-87	RANKL 結合ペプチドは BMP-2 遺伝子発現非ウイルスベクターによる骨形成を促進する ○長弘 茂樹 ¹ , 上原 智己 ¹ , ケオブレクサ ² , 河井まりこ ³ , 青木 和広 ⁴ (1医科歯科大 院医歯 小児, 2医科歯科大 院医歯 咬合機能, 3大歯大 薬理, 4医科歯科大 院医歯 口腔基礎工)
P1-88	オキシトシンは眼窩下神経結紮モデルにおける異所性疼痛発症を予防する ○野間 大地 ^{1,2} , 藤田 智史 ² , 小林 真之 ² (1日大 歯 矯正, 2日大 歯 薬理)
P1-89	ヒト歯肉線維芽細胞における生理的刺激による Ca ²⁺ 応答とフェニトインの作用 ○養輪映里佳 ¹ , 根津 顕弘 ² , 倉重 圭史 ¹ , 齊藤 正人 ¹ , 谷村 明彦 ² (1北医療大 歯 小児歯, 2北医療大 歯 薬理)
P1-90	RANKL 結合ペプチドと BMP-2 との注射により誘導されたマウス上顎骨の経時的変化とスクリュー植立の影響 ○KEO PREKSA ^{1,2} , 松本 芳郎 ¹ , 長弘 茂樹 ^{2,3} , 青木 和広 ² , 小野 卓史 ¹ (1医科歯科大 院医歯 咬合機能, 2医科歯科大 院医歯 口腔基礎工, 3医科歯科大 院医歯 小児)
P1-91	低ホスファターゼ症における石灰化不全改善のための新規治療法の開発 ○高橋 有希 ¹ , 棚瀬 稔貴 ² , 松永 智 ³ , 阿部 伸一 ³ , 新谷 誠康 ² , 笠原 正貴 ¹ (1東歯大 薬理, 2東歯大 小児歯, 3東歯大 解剖)
P1-92	全唾液から遠心法を用いて分離した唾液 exosome のポジティブ染色による透過型電子顕微鏡観察 ○山本 恵史 ¹ , 芝 清隆 ² , 橋本 貞充 ³ , 笠原 正貴 ¹ (1東歯大 薬理, 2がん研 蛋白創製, 3東歯大 生物)
P1-93	歯原性上皮細胞株と歯髄幹細胞の共培養による Ca ²⁺ 応答のイメージング解析 ○石田 成美, 村田 佳織, 谷村 明彦 (北医療大 院歯 薬理)
P1-94	シリカ製不織布を用いた新規蛍光アッセイ法の開発 ○Jahan Azmeree, 石田 成美, 谷村 明彦 (北医療大 歯 薬理)

P2-01	<i>Porphyromonas gingivalis</i> gingipains による COX2 発現と PGE2 産生における細胞内カルシウムの関与 ○中山 真彰 ^{1,2} , 内藤真理子 ³ , 中山 浩次 ³ , 大原 直也 ^{1,2} (岡大 院医歯薬 口腔微生物, ² 岡大 歯 先端研セ, ³ 長大 院医歯薬 口腔病原微生物)
P2-02	歯周病細菌 <i>Prevotella intermedia</i> のジペプチダーゼの同定: C69.001 ファミリージペプチダーゼ A の N 末特異性の再定義 ○Sarwar Tanvir, 根本 優子, 小野 俊雄, 根本 孝幸 (長大 医歯薬 口腔分子生)
P2-03	抗菌ペプチド LL-37 がヒト歯肉線維芽細胞に誘導するケモカイン産生および細胞毒性における P2X ₇ 受容体の関与 ○猪俣 恵, 引頭 毅 (朝日大 歯 口腔微生物)
P2-04	<i>Candida albicans</i> の宿主内生存戦略におけるオートファジーの生理機能の解析 ○堀江 哲郎, 那須 優則 (日歯大 生命歯 共同利用研究セ)
P2-05	次世代シーケンサーによる総義歯バイオフィルムの菌叢解析及びモデルバイオフィルムの構築 ○濱田 昌子 ¹ , 富岡 寿也 ¹ , 柴田健一郎 ² , 五味 満裕 ¹ (小林製薬 中央研, ² 北大 院歯)
P2-06	<i>Fusobacterium nucleatum</i> 硫化水素産生酵素阻害剤の探索 ○毛塚雄一郎 ¹ , 吉田 康夫 ² (岩医大 薬 構造生物, ² 愛院大 歯 微生物)
P2-07	フッ化物による歯周病関連菌 <i>Porphyromonas gingivalis</i> の増殖・代謝の抑制効果 ○土門ひと美 ¹ , 鷺尾 純平 ¹ , 安彦 友希 ¹ , 川嶋 順子 ² , 高橋 信博 ¹ (東北大 院歯 口腔生, ² 東北大 東北メディカル・メガバンク機構 ゲノム解析)
P2-08	歯周基本治療における乳酸菌配合タブレット継続摂取の併用が口腔細菌叢に与える影響 ○中野 善夫 ¹ , 谷口 奈央 ² , 太田 純明 ³ , 埴岡 隆 ² (日大 歯 化学, ² 福歯大 口腔保健, ³ おたデンタルクリニック)
P2-09	<i>Candida albicans</i> 薬剤排出ポンプ Cdr1p 阻害剤の探索 ○福井佳代子 ¹ , 原 基 ¹ , 桑島 治博 ¹ , 今井あかね ^{2,3} , 仲村健二郎 ¹ (日歯大新潟 薬理, ² 日歯大新潟 生, ³ 日歯大新潟短大)
P2-10	<i>Porphyromonas gulae</i> LPS による TLR2 / TLR4 を介した免疫応答制御の解明 ○稲葉 浩明, 吉田 翔, 仲野 道代 (岡大 院医歯薬 小児歯)
P2-11	口腔細菌カプノサイトファガの OxyR 変異株作製 ○菊池有一郎 ^{1,2} , 柴山 和子 ² , 国分 栄仁 ^{1,2} , 石原 和幸 ^{1,2} (東歯大 微生物, ² 東歯大 口科研)
P2-12	<i>Porphyromonas gingivalis</i> の H ⁺ 依存性ジペプチドトランスポーター ○根本 優子, Sarwar Tanvir, 小早川 健, 根本 孝幸 (長大 院医歯薬 口腔分子生)
P2-13	宿主免疫応答による歯周病の病態形成機構の解明 ○永尾 潤一, 成田 由香, 有田 (森岡) 健一, 安松香奈江, 田崎 園子, 長 環, 田中 芳彦 (福歯大 機能生物 感染生物)
P2-14	<i>Porphyromonas gingivalis</i> Hgp44 の <i>Treponema denticola</i> との共凝集における付着ドメインの解明 ○吉川 幸輝 ¹ , 菊池有一郎 ² , 国分 栄仁 ² , 北村友里恵 ¹ , 齋藤 淳 ¹ , 石原 和幸 ² (東歯大 歯周, ² 東歯大 微生物)
P2-15	抗原の舌下投与による舌下粘膜面における樹状細胞クラスターの形成誘導 ○楠本 豊 ¹ , 片岡 宏介 ² (大阪大谷大 薬 免疫, ² 大歯大 口腔衛生)
P2-16	エナメル上皮腫の増悪に対する歯周病原細菌代謝産物の影響 ○石河 太知, 下山 佑, 古玉 芳豊, 佐々木 実 (岩医大 分子微生物)
P2-17	<i>Porphyromonas gingivalis</i> PGN_0296 オペロンの解析 ○小野晋太郎 ¹ , 中山 真彰 ² , Shahriar A ² , 大原 直也 ² (岡大 院医歯薬 歯周病態, ² 岡大 院医歯薬 口腔微生物)
P2-18	鎮静薬が引き起こす刺激脾細胞の免疫応答変化 ○神谷 真子 ¹ , 高山 英次 ² , 川木 晴美 ² , 梅村 直己 ² , 上野 恭平 ² , 松並 晃弘 ³ , 安藤 恵 ² , 住友伸一郎 ³ , 智原 栄一 ⁴ , 近藤 信夫 ² (朝日大 営 化学, ² 朝日大 歯 口腔生, ³ 朝日大 歯 口腔外科, ⁴ 朝日大 歯 麻酔)
P2-19	歯根膜細胞の細胞特性に対する咬合力の影響 ○高橋 智美, 牛島 夏未, 飯塚 正 (北大 院歯 学術支援)
P2-21	接合上皮形成過程のエナメル器における ICAM-1 および CD9 の局在変化 ○藤川 芳織, 北村 素子, 福島美和子, 中村 雅典 (昭大 歯)
P2-22	マウス歯根膜細胞の LRP1 発現による抜歯窩修復への寄与 ○二宮 禎 ¹ , 中村 純基 ² , 永島 利通 ³ , 大橋 晶子 ¹ , 高橋 富久 ¹ (日大 歯 解剖 1, ² 日大 歯 矯正, ³ 日大 歯 口外)
P2-23	FIB/SEM tomography を用いた咬合喪失時 (挺出時) における歯根膜の3次元構造解析 ○平嶋 伸悟 ¹ (久留米大 医 顕微解剖, ² 久留米大 医 歯口セ)

P2-24	IGF-I はヘルトヴィッチ上皮鞘の断裂とセメント質形成を促進する ○藤原 尚樹 ¹ , 藤村 朗 ² (1岩医大 歯 機能形態, 2岩医大 歯 歯科医学教育)
P2-25	機械的ストレスはヒト歯周韌帯線維芽細胞において PDL 関連遺伝子を誘導する ○HOSIRILUCK NATTAKARN ¹ , Takada Ayuko ¹ , Kashio Haruna ² , Mizoguchi Itaru ³ , Arakawa Toshiya ¹ (1北医大 歯 生化, 2北医大 歯 歯科矯正, 3東北大 歯 歯科矯正)
P2-26	ヒトセメント質における硬度の変異と組成変化の関連 ○三島 弘幸 ¹ , 山口 大 ² , 千葉 敏江 ³ (1鶴大 歯 歯科理工, 2吉本矯正歯科, 3鶴大 歯 口腔解剖)
P2-27	歯のエナメル質様硬組織の硬骨魚類段階における分化 ○笹川 一郎 ¹ , 岡 俊哉 ² , 三上 正人 ³ , 横須賀宏之 ⁴ , 石山巴喜夫 ⁴ (1日歯大 新潟歯 先端研, 2日歯大 新潟歯 生物, 3日歯大 新潟歯 微生物, 4日歯大 新潟歯 解剖2)
P2-28	ヒト歯髄においてシュワン細胞はマクロファージを M2 型へ転換する ○吉羽 永子 ¹ , 大倉 直人 ¹ , 前川 知樹 ² , 泉 健次 ³ , 細矢 明宏 ⁶ , 中村 浩彰 ⁷ , 前田 健康 ⁴ , 野村由一郎 ¹ , 吉羽 邦彦 ⁵ (1新潟大 院医歯 う蝕, 2新潟大 院医歯 高口機教研, 3新潟大 院医歯 生体組織再生, 4新潟大 院医歯 歯教研開発, 5新潟大 院医歯 口腔保健, 6北医療大 歯 組織, 7松歯大 口腔解剖 II)
P2-29	歯牙形成過程の象牙芽細胞における小胞分泌関連タンパク質 CD63 の局在変化 ○福島美和子, 藤川 芳織, 井上 知, 中村 雅典 (昭大 歯 口腔解剖)
P2-30	<i>Lophius litulon</i> におけるオキシタラン線維の組織学的研究 ○湯口 眞紀 ^{1,2} , 山崎 洋介 ^{1,2} , 金沢 紘史 ¹ , 磯川桂太郎 ^{1,2} (1日大 歯 解剖 II, 2日大 歯 総歯研 機能形態)
P2-31	糖化ストレスによって象牙質内に蓄積する糖化最終産物 (AGEs) の分布検出方法の検討 ○清水 真人, 三浦 治郎, 杉山 敬多, 高島 葵 (阪大 院歯 総診)
P2-32	Bisphosphonate はミトコンドリア機能を障害することにより骨芽細胞のマイトファジーを促進させる ○田島 雅道 (明海大 歯 病態診断治療・薬理)
P2-33	セツキシマブのヒト口腔扁平上皮がん細胞及びケラチノサイトに対する選択毒性の評価 ○飯島 洋介 ¹ , 坂東健二郎 ² , 友村 明人 ² , 山田 美喜 ¹ , 日野 峻輔 ¹ , 金子 貴広 ¹ , 堀江 憲夫 ¹ , 坂上 宏 ³ (1埼玉大 総医セ 歯科口腔外科, 2明海大 生化, 3明海大 歯科医学総合研)
P2-34	マウスの実験的口内炎に対するエピシル™の効果 ○山田 美喜 ¹ , 飯島 洋介 ¹ , 日野 峻輔 ¹ , 金子 貴広 ¹ , 坂上 宏 ² , 堀江 憲夫 ¹ (1埼玉大 総医セ 歯科口腔外科, 2明海大 歯科医学総合研)
P2-35	集団におけるヒト唾液高プロリンタンパク質 P-B とそのバリエーション Q504X8 の発現頻度の解析 ○斎藤 英一 ¹ , 今井あかね ² , 加藤 哲男 ³ (1新潟工大 院工, 2日歯大新潟短大 歯科衛生, 3東歯大 化学)
P2-36	唾液分泌に対するプロポフォール投与の影響 ○古山 昭, 大須賀健二, 川合 宏仁 (奥羽大 歯 口腔機能分子生物)
P2-37	悪性黒色腫細胞におけるヒスタチン遺伝子の転写調節領域 ○今村 泰弘 ¹ , 王 宝禮 ² , 十川 紀夫 ¹ (1松歯大 歯科薬理, 2大歯大 教育)
P2-38	NOD と正常型マウス耳下腺における S100 タンパク質の発現比較 ○佐藤 律子 ^{1,2} , 梨田 智子 ² , 水橋 史 ³ , 下村-黒木 淳子 ⁴ , 森田 貴雄 ² (1日歯大 新潟短大 歯科衛生, 2日歯大 新潟 生化, 3日歯大 新潟 補綴 1, 4日歯大 新潟生命歯 小児歯)
P2-39	ピロカルピンおよびセビメリン刺激による遺伝子発現変化の違い ○森田 貴雄 ¹ , 根津 顕弘 ² , 佐藤 律子 ^{1,3} , 梨田 智子 ¹ , 谷村 明彦 ² (1日歯大新潟 生化, 2北医療大 歯 薬理, 3日歯大 新潟短大 歯科衛生)
P2-40	アセチルコリンによって生じる顎下腺の組織レベルで同調する Ca ²⁺ オシレーションとその発生機構 ○根津 顕弘 ¹ , 森田 貴雄 ² , 石井 久淑 ³ , 谷村 明彦 ¹ (1北医療大 歯 薬理, 2日歯大新潟 生化, 3北医療大 歯 生理)
P2-41	<i>Mitf</i> 遺伝子変異による咬筋の線維化とアポトーシスの誘導 ○成山明具美 ¹ , 大貫 芳樹 ² , 吹田 憲治 ² , 梅木 大輔 ³ , 伊藤 愛子 ³ , 八木澤由佳 ³ , 石川美佐緒 ⁴ , 朝田 芳信 ¹ , 奥村 敏 ² (1鶴大 歯 小児歯, 2鶴大 歯 生理, 3鶴大 歯 矯正, 4鶴大 歯 解剖 I)
P2-42	咽頭・喉頭領域に発現している様々なイオンチャネルと嚥下反射の関連 ○ホッサインモハマドザキル ¹ , 安藤 宏 ² , 海野 俊平 ² , 増田 裕次 ³ , 北川 純一 ¹ (1松歯大 歯 口腔生理, 2松歯大 歯 生物, 3松歯大 院歯 顎口腔機能制御)
P2-43	喉頭・領域を支配する上喉頭神経における TRP, ASIC および Piezo チャネルの発現 ○安藤 宏 ¹ , Hossain Mohammad Zakir ² , 海野 俊平 ² , 増田 裕次 ³ , 北川 純一 ² (1松歯大 歯 生物, 2松歯大 歯 口腔生理, 3松歯大 院歯 顎口腔機能制御)
P2-44	ヒト舌下神経節の所在と形態に関する肉眼解剖学・顕微解剖学的研究 ○高橋 昌己, 坂倉 康則 (北医療大 歯 解剖)
P2-45	マウス島皮質のシナプス長期増強におけるニコチン受容体の役割 ○豊田 博紀, 佐藤 元, 加藤 隆史 (阪大 院歯 口腔生理)
P2-46	混合味溶液の内容成分を識別するにはどの程度の時間が必要か? ○山村 知暉, 安尾 敏明, 諏訪部 武, 碓 哲崇 (朝日大 歯 口腔生理)

P2-47	ビタミンC 欠乏誘発性の食欲不振とビタミンC 欲求 ○安尾 敏明, 諏訪部 武, 山村 知暉 (朝日大 歯 口腔生理)
P2-48	反復的な強制水泳ストレスが誘発する吻側延髄腹側部ニューロンの応答特性の変調 ○黒瀬 雅之 ¹ , 長谷川真奈 ² , 佐藤 義英 ³ , 藤井 規孝 ² , 山村 健介 ¹ , 岡本圭一郎 ¹ (¹ 新潟大 院医歯 口腔生理, ² 新潟大 医歯病 歯総診, ³ 日歯大新潟 生理)
P2-49	口腔機能発達における間歇的低酸素負荷の影響 ○下田 麻央 ^{1,2} , 豊田 博紀 ¹ , 片桐 綾乃 ¹ , 佐藤 元 ¹ , 秋山 茂久 ² , 加藤 隆史 ¹ (¹ 阪大 院歯 口腔生理, ² 阪大 歯 病 障害歯)
P2-50	ラットの口腔顔面感覚神経節におけるレニン-アンジオテンシン系とアンジオテンシン II 受容体 ○諏訪部 武, 安尾 敏明, 碓 哲崇 (朝日大 歯 口腔生理)
P2-51	抗菌剤を投与した2型糖尿病モデルラット口蓋粘膜の創傷治癒 ○上村 守, 折原 博一, 角 陽一, 盛植紘太郎, 川島 渉, 戸田 伊紀 (大歯大 解剖)
P2-52	マウス腫瘍モデルにおけるインターフェロン誘導性ケモカインの抗腫瘍活性 ○森 一将 ¹ , 廣井 美紀 ² , 松本 安史 ¹ , 嶋田 淳 ¹ , 大森 喜弘 ² (¹ 明海大 歯 病態診断治療 口腔顎顔面外科 1, ² 明海大 歯 口腔生物再生医工 微生物)
P2-53	口腔扁平上皮癌細胞 Sq1979 由来の液性因子による単球系細胞 MLC-6 を介した免疫抑制機構 ○安藤 恵 ¹ , 神谷 真子 ² , 松並 晃弘 ³ , 高山 英次 ¹ , 川木 晴美 ¹ , 梅村 直己 ¹ , 上野 恭平 ¹ , 村松 泰徳 ³ , 住友伸一郎 ³ , 近藤 信夫 ¹ (朝日大 歯 口腔生化学, ² 朝日大 化学, ³ 朝日大 歯 口外)
P2-54	腫瘍内浸潤マクロファージの細胞内代謝は腫瘍の腫瘍の増大に伴い解糖系が亢進する ○梅村 直己, 上野 恭平, 川木 晴美, 高山 英次, 近藤 信夫 (朝日大 歯 口腔生化学)
P2-55	アセトアルデヒドが口腔上皮細胞に及ぼす影響 ○宮崎 裕司 ¹ , 星野 都 ² , 金田 朋久 ³ , 西村 学 ² , 菊池建太郎 ² , 草間 薫 ² (¹ 明海大 歯 基礎生物, ² 明海大 歯 病理, ³ 明海大 歯 口腔外科)
P2-56	酸性細胞外 pH 馴化と癌細胞の転移能獲得について ○須藤 周作, 前田 豊信, 鈴木 厚子, 加藤 靖正 (奥羽大 歯 口腔機能分子生物)
P2-57	アデノシン A ₃ アゴニストはミクログリアの活性化と収斂投射を抑制することで神経障害性疼痛を減弱させる ○寺山 隆司 (広大 院医 顎顔面解剖)
P2-58	Low-density lipoprotein の細胞内への取り込みに依存したホスファチジルエタノールアミンの細胞膜外葉への局在変換は破骨細胞の融合過程に関与する ○羽毛田慈之 ¹ , キタノホセ ^{1,2} , 内田 洋子 ^{1,2} , 林田千代美 ¹ , 佐藤 卓也 ¹ , 嶋田 淳 ² (¹ 明海大 歯 口腔解剖, ² 明海大 歯 顎顔面口腔外科)
P2-59	卵巣摘出マウスを用いた長骨骨幹端修復過程の解析 ○井上 知, 藤川 芳織, 福島美和子, 中村 雅典 (昭大 歯 口腔解剖)
P2-60	破骨細胞の骨吸収能に対する β シクロデキストリンホスフェートの影響 ○吉川 美弘 ¹ , 津田 進 ² , 堂前 英資 ¹ , 鎌田 愛子 ¹ , 池尾 隆 ¹ (¹ 大歯大 生化学, ² 大歯大 化学)
P2-61	二つの骨形成様式における造血機構と骨芽細胞の関連 ○馬谷原光織, 藤川 芳織, 中村 雅典 (昭大 口腔解剖)
P2-62	マウスメッセル軟骨前半の消失様式について ○井上貴一郎, 八若 保孝 (北大 院歯 小児障害者)
P2-63	Jansen 型 PTH/PTHrP 受容体変異トランスジェニックマウスの形態および機能異常解析 ○下村-黒木 淳子 ¹ , 梨田 智子 ² , 森田 貴雄 ² , 大島 勇人 ³ , 網塚 憲生 ⁴ (¹ 日歯大新潟 小児歯, ² 日歯大新潟 生化学, ³ 新潟大 院医歯 硬組織形態, ⁴ 北大 院歯 硬組織発生)
P2-64	酵素細胞化学と準超薄連続切片を用いた破骨細胞のゴルジ装置の立体復構 ○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)
P2-65	The effects of chemical chaperone on ER stress on tooth development and regeneration ○Eui-Seon Lee ¹ , Nirpesh Adhikari ¹ , Yam Prasad Aryal ¹ , Tae-Young Kim ¹ , Chang-Yeol Yeon ¹ , Hitoshi Yamamoto ² , Chang-Hyeon An ¹ , Jae-Kwang Jung ¹ , Jung-Hong Ha ¹ , Jae-Young Kim ¹ (¹ Sch Dent, IHBR, Kyungpook Natl Univ, ² Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll)
P2-66	Developmental roles of FUSE Binding Protein 1 in tooth development ○Yam Prasad Aryal ¹ , Nirpesh Adhikari ¹ , Chang-Hyeon An ¹ , Seo-Young An ¹ , Jung-Hong Ha ¹ , Jae-Kwang Jung ¹ , Hitoshi Yamamoto ² , Youngkyun Lee ¹ , Wern-Joo Sohn ³ , Jae-Young Kim ¹ (¹ Sch Dent, IHBR, Kyungpook Natl Univ, ² Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll)

P3-01	<i>Porphyromonas gingivalis</i> 含有色素を応用した新規抗菌光線力学療法の検討 ○吉田 彩佳, 佐々木 悠, 居作 和人, 遠山 歳三, 浜田 信城, 吉野 文彦 (神歯大 院歯 口腔科学)
P3-02	PGN_0297 (porG) は <i>Porphyromonas gingivalis</i> の IX 型分泌機構の必須構成遺伝子である ○内藤真理子, 庄子 幹郎, 中山 浩次 (長大 院医歯薬 口腔病原微生物)
P3-03	<i>Porphyromonas. gingivalis</i> LPS が誘導する糖尿病性腎症の発症と TLR4 阻害剤による効果 ○梶原弘一郎 ¹ , 高良 憲洋 ² , 藤田 隆寛 ¹ , 坂上 竜資 ³ , 小島 寛 ² , 沢 禎彦 ⁴ (¹ 福歯大 成長発達 矯正, ² 福歯大 成長発達 障害歯, ³ 福歯大 口腔治療 歯周, ⁴ 岡大 院医歯薬 口腔機能解剖)
P3-04	歯周病原細菌 <i>Fusobacterium nucleatum</i> の骨吸収および歯周組織炎症への関与 ○小川 泰宏, 小林 良喜, 河野 哲朗, 岡田 裕之, 落合 智子, 小宮 正道 (日大松戸歯 院歯 口腔外科)
P3-05	紫色 LED 照射によるプラーク菌叢の変動 ○南部 隆之 ¹ , 真下 千穂 ¹ , 円山 由郷 ¹ , 吉川 一志 ² , 山本 一世 ² , 沖永 敏則 ¹ (¹ 大歯大 歯 細菌, ² 大歯大 歯 歯科保存)
P3-06	歯周炎を誘発する T 細胞抗原エpiteープの同定 ○成田 由香, 永尾 潤一, 有田 (森岡) 健一, 田崎 園子, 安松香奈江, 長 環, 田中 芳彦 (福歯大 機能生物 化学 感染生物)
P3-07	<i>Mycoplasma salivarium</i> 株間の CRISPR 配列比較 ○下山 佑 ¹ , 石河 太知 ¹ , 古玉 芳豊 ¹ , 木村 重信 ² , 佐々木 実 ¹ (¹ 岩医大 歯 分子微生物, ² 関西女短大 歯科衛生)
P3-08	ロングリードシーケンサーを用いた初期付着プラークの構成細菌の同定 ○竹下 徹 ^{1,2} , 影山 伸哉 ¹ , 朝川美加李 ¹ , 柴田 幸江 ¹ , 山下 喜久 ¹ (¹ 九大 院歯 口腔予防, ² 九大 院歯 OBT 研究セ)
P3-09	う蝕原性細菌と歯周病原細菌に対する脂肪酸塩による殺菌効果 ○倉橋 絢子, 渡辺 清子, 佐藤 武則, 佐々木 悠, 浜田 信城 (神歯大 院歯 口腔科学)
P3-10	健常学生の鼻腔における <i>Staphylococcus aureus</i> の保有状況 ○桑原 紀子, 齋藤 真規, 瀧澤 智美, 小林 良喜, 落合 智子 (日大松戸歯 感染免疫)
P3-11	口腔内における溶血性 <i>Gemella</i> と歯周病細菌 <i>P. gingivalis</i> の関連性 ○三好 智博 ¹ , 吉成 伸夫 ² , 吉田 明弘 ¹ (¹ 松歯大 口腔細菌, ² 松歯大 保存)
P3-12	頭頸部放射線療法後患者におけるグルコン酸クロルヘキシジン, プロポリス, カレーリーフ, またはターメリック含有口腔保湿ジェルの効果 ○中尾 龍馬 ¹ , 平山 悟 ¹ , 泉福 英信 ¹ , 上野 尚雄 ² (¹ 感染研 細菌 1, ² がん研究セ 中央病院 歯科)
P3-13	<i>Streptococcus pneumoniae</i> は種特異的なタンパク質 PfbA により過剰な免疫応答を伴う宿主の死亡を抑制する ○山口 雅也 ¹ , 広瀬雄二郎 ¹ , 竹村 萌 ¹ , 大野 誠之 ¹ , 住友 倫子 ¹ , 中田 匡宣 ¹ , 寺尾 豊 ² , 川端 重忠 ¹ (¹ 阪大院歯 口腔細菌, ² 新潟大 院医歯 微生物)
P3-14	温度感受性転写因子の翻訳効率に依存する化膿レンサ球菌の線毛発現 ○中田 匡宣, 住友 倫子, 川端 重忠 (阪大 院歯 口腔細菌)
P3-15	多血小板フィブリン (PRF) 治療後の歯周組織再生に関する組織学的研究 ○劉 宇豪, 東 雅啓, 松尾 雅斗 (神歯大 院歯 口腔科学)
P3-16	TNF- α 刺激ヒト歯肉線維芽細胞の MMP-1 と MMP-3 分泌に対する S-PRG フィラー溶出液の影響 ○井上 博, 合田 征司 (大歯大 生理)
P3-17	<i>Porphyromonas gingivalis</i> 感染による脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) における歯肉循環変化の解析 ○高橋 聡子 ¹ , 吉野 文彦 ¹ , 吉田 彩佳 ¹ , 前畑洋次郎 ¹ , 遠山 歳三 ¹ , 佐藤 武則 ¹ , 浜田 信城 ¹ , 李 昌一 ² , 高橋 俊介 ¹ (¹ 神歯大 院歯 口腔科学, ² 神歯大 院歯 横須賀・湘南・災害医療歯科研究セ)
P3-18	三叉神経節ニューロンの機械刺激感受性 ○東川明日香, 木村 麻記, 戸田はる菜, 嶋田みゆき, 大房 航, 大山 定男, 河野 恭祐, 望月 浩之, 澁川 義幸 (東歯大 生理)
P3-19	象牙質痛メカニズムの解析: in vivo study ○大山 定男 ¹ , 人見 涼露 ² , 東川明日香 ¹ , 大房 航 ¹ , 戸田はる菜 ¹ , 黒田 英孝 ³ , 木村 麻記 ¹ , 小野堅太郎 ² , 澁川 義幸 ¹ (¹ 東歯大 生理, ² 九歯大 健康増進 生理, ³ 神歯大 全身管理医歯 麻酔)
P3-20	歯肉線維芽細胞の老化制御の解析 ○古川 匡恵 ¹ , 松田 一成 ² , 黒澤 実愛 ¹ , 青木 優 ² , 四釜 洋介 ¹ , 松下 健二 ¹ (¹ 長寿研究セ 口腔疾患研究, ² 第一三共ヘルスケア研究開発部 生物評価・分析グループ)
P2-20	抜歯窩治癒過程におけるマクロファージ浸潤についての免疫組織学的解析 ○堀部 寛治, 原 弥革力, 中村 浩彰 (松歯大 口腔解剖)
P3-21	歯科用コーンビーム CT による下顎切歯根管形態の観察 ○宇佐美晶信, 芹川 雅光 (奥羽大 歯 口腔解剖)

P3-22	卵殻膜とビタミン C 投与による歯の移動時の組織学的変化について ○元地 弘樹, 東 雅啓, 日高 恒輝, 松尾 雅斗 (神歯大 院歯 歯科形態)
P3-23	歯槽骨歯槽頂部の発生一歯根膜-固有歯槽骨連結部の形成は骨膜-皮質骨のそれとは異なる— ○河野 芳朗, 杉山 明子, 滝川 俊也 (朝日大 歯 口腔解剖)
P3-24	熱処理によってアテロコラーゲン・セラチンスポンジの分解性能の低下 ○Yang Longqiang ¹ , 三浦 直 ² , 笠原 正貴 ¹ (東歯大 薬理, 東歯大 口腔科学研究セ)
P3-25	硬組織ラベリング法による放射線照射したマウス歯胚の根尖部の観察 ○井出 吉昭 ¹ , 深田 哲也 ² , 那須 優則 ³ , 中原 貴 ¹ (日歯大 生命歯 発生再生, 日歯大 生命歯 薬理, 日歯大 生命歯 共同研)
P3-26	エナメル上皮幹細胞運命決定における低酸素一細胞内シグナル連関 ○大津 圭史 ¹ , 池崎昌二郎 ¹ , 大島 勇人 ² , 原田 英光 ¹ (岩医大 歯 発生生物, 新潟大 院医歯 硬組織形態)
P3-27	Crouzon 症候群患者由来の歯髄幹細胞における遺伝子発現とタンパク質発現の解析 ○鳥居 大祐 ¹ , 小林 朋子 ^{2,3} , 堀江 哲郎 ² , 筒井 健夫 ¹ (日歯大 生命歯 薬理, 日歯大 生命歯 共同研, 医科歯科大 院医歯 歯周病)
P3-28	歯胚上皮及び歯髄幹細胞・象牙芽細胞維持に関わる Shh-Ptch-Gli シグナル経路 ○石川 裕子 ¹ , 依田 浩子 ² , 斎藤浩太郎 ² , 中富 満城 ³ , 大島 勇人 ² (千葉保医大 健康科学 歯科衛生, 新潟大 院医歯 硬組織形態, 九歯大 解剖)
P3-29	TGFβ-アインフォームによる成熟期エナメルタンパク遺伝子発現の制御 ○宮川 友里 ¹ , 唐木田丈夫 ² , 小林 冴子 ¹ , 山越 康夫 ² , 朝田 芳信 ¹ (鶴大 歯 小児歯, 鶴大 歯 生化)
P3-30	ヒト部位別顔面皮下組織構造における立体構造の走査型電子顕微鏡による観察 ○天野カオリ, 日高 恒輝, 山本 麗子, 松尾 雅斗 (神歯大 院歯 口腔科学)
P3-31	高齢者の嚥下機能低下に関与する喉頭蓋の加齢変化における組織学的観察 ○芹川 雅光, 宇佐美晶信 (奥羽大 歯 口腔解剖)
P3-32	舌神経口峽枝の分布および舌下神経との交通枝 ○下高原理恵, 峰 和治, 田松 裕一 (鹿大 院医歯 解剖法歯)
P3-33	形態学的視点からみた筋-骨のインターラクション ○山本 将仁 ¹ , 石束 毅 ¹ , 内藤 哲 ¹ , 橋本 千明 ¹ , 北村 啓 ² , 阿部 伸一 ¹ (東歯大 解剖, 東歯大 組織発生)
P3-34	甲状腺濾胞におけるマクロファージとリンパ球の局在に関する組織学的研究 ○内藤 哲, 山本 将仁, 阿部 伸一 (東歯大 解剖)
P3-35	頸部における alpha-synuclein 含有感覚神経の分布と機能 ○佐藤 匡 ¹ , 矢島 健大 ¹ , 島崎健一郎 ¹ , 西谷登美子 ^{1,2} , 星加 知宏 ² , 西谷 佳浩 ² , 市川 博之 ¹ (東北大 院歯 口腔器官解剖, 鹿大 院医歯 歯科保存)
P3-36	顎関節部の器質的変化がもたらす周囲組織への影響 ○石束 毅 ^{1,3} , 四ツ谷 護 ^{2,3} , 山本 将仁 ^{1,3} , 阿部 伸一 ^{1,3} (東歯大 解剖, 東歯大 クラウンブリッジ, 東歯大 研究ブランディング事業)
P3-37	成体イモリ下顎組織の再生過程での形態学的解析 ○川本沙也華, 田谷 雄二, 佐藤かおり, 添野 雄一 (日歯大 生命歯 病理)
P3-38	マウス顎顔面発生における舌下神経軸索と舌筋細胞系譜との相互作用 ○田谷 雄二 ¹ , 佐々木康成 ² , 堀江 哲郎 ³ , 佐藤かおり ¹ , 添野 雄一 ¹ (日歯大 生命歯 病理, 神奈川こども医療セ 臨床研 歯科, 日歯大 生命歯 共同研)
P3-39	筋における High mobility group box 1 (HMGB1) の働き ○崎山 浩司 ¹ , 小笠原悠大 ^{1,2} , 小野澤 豪 ^{1,3} , 長坂 新 ¹ , 坂東 康彦 ¹ , 天野 修 ¹ (明海大 歯 解剖, 明海大 歯 口腔顎顔面外科 2, 明海大 歯 口腔顎顔面外科 1)
P3-40	口蓋癒合におけるメカノセンサーイオンチャネルの発現 ○本田 裕子, 田原 愛理, 大崎 康吉, 曹 愛琳, 高 イキ, 西田 寛汰, 内野 加穂, 吉本 怜子, 城戸 瑞穂 (佐賀大 医 組織・神経解剖)
P3-41	唾液腺支配のラット上唾液核ニューロンに対する摂食亢進ペプチドの影響 ○美藤 純弘 ¹ , 佐藤 匡 ² , 藤田 雅子 ¹ , 小橋 基 ¹ , 市川 博之 ² , 吉田 竜介 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔生理, 東北大 院歯 口腔器官構造)
P3-42	盲腸における短鎖脂肪酸の吸収とラット唾液中 IgA 分泌速度の関連 ○山本 裕子 ¹ , 猿田 樹理 ² , 東 雅啓 ² , 坂口和歌子 ² , 槻木 恵一 ² (神歯大 短期 歯科衛生, 神歯大 院歯 口腔科学)
P3-43	カルバコールにより誘発される顎下腺水分分泌の細胞外グルコース濃度依存性 ○杉田 誠, 北川 道憲 (広大 院医系 口腔生理)
P3-44	ラット三大唾液腺の血流動態に与える体性感覚と味覚入力の効果の違い ○佐藤 寿哉, Ramadhani Ratna, 三戸 浩平, 石井 久淑 (北医大 歯 生理)

P3-45	Cdc42 は <i>in vivo</i> でマウス唾液腺の分泌顆粒の形態を制御する ○設楽 彰子, 柏俣 正典 (朝日大 歯 歯科薬理)
P3-46	マウスアミノ酸受容体 <i>Tas1r1</i> 遺伝子における転写因子 <i>Myod1</i> の機能解析 ○豊野 孝 ¹ , 松山 佳永 ¹ , 片岡 真司 ¹ , 中富 満城 ¹ , 細川 隆司 ² , 瀬田 祐司 ¹ (¹ 九歯大 歯 健康増進 解剖, ² 九歯大 口腔再建リハビリ)
P3-47	ATP による C6 グリア由来細胞の局所的カルシウムイオン濃度の上昇とその発生機構 ○郷 賢治 ¹ , 根津 顕弘 ² , 照光 真 ¹ , 谷村 明彦 ² (¹ 北医療大 歯 麻酔, ² 北医療大 歯 薬理)
P3-48	stretched podocytes における Tumor Susceptibility Gene 101 (TSG101) 遺伝子の分子制御機構 ○春原 正隆, 浅田奈緒美, 三輪 容子 (日歯大 生命歯 解剖一)
P3-49	マウス咬筋の筋活動に対する SSRI の影響 ○望月 文子 ¹ , 池田美菜子 ² , 中村 史朗 ¹ , 中山希世美 ¹ , 壇辻 昌典 ¹ , 加藤 隆史 ³ , 馬場 一美 ² , 井上 富雄 ¹ (¹ 昭大 歯 口腔生理, ² 昭大 歯 補綴, ³ 阪大 院歯 口腔生理)
P3-50	抗がん剤バクリタキセルは酸味の味覚感度を変調する ○藤山 理恵 (長大 歯 総歯臨床教育)
P3-51	三叉神経系感覚情報処理における一次感覚野への皮質内線維投射 ○古田 貴寛, 吉田 篤 (阪大 院歯 口腔解剖二)
P3-52	ラット咽喉頭部における水誘発嚥下抑制因子の検討 ○氏原 泉, 人見 涼露, 小野堅太郎 (九歯大 生理)
P3-53	ラットを用いた口腔内における粘性知覚評価法の開発 ○宮村 侑一 ¹ , 人見 涼露 ¹ , 氏原 泉 ¹ , 小野堅太郎 ¹ (¹ 九歯大 院歯 生理, ² 九歯大 院歯 放射線)
P3-54	マウス大脳皮質の運動野において、錐体ニューロンからパルプアルブミン陽性インターニューロンへの入力を定量的に解析する ○倉本恵梨子, 岩井 治樹, 山中 淳之, 後藤 哲哉 (鹿大 院医歯 歯科機能形態)
P3-55	抗不整脈薬フレカイニドがマウス味蕾オルガノイドおよび味行動応答に及ぼす影響 ○川端 由子 ¹ , 高井 信吾 ¹ , 吉田 竜介 ² , 實松 敬介 ^{1,3} , 重村 憲徳 ¹ (¹ 九大 院歯 口腔機能解析, ² 岡大 院医歯薬 口腔生理, ³ 九大 五感応用デバイス研究開発セ)
P3-56	咀嚼筋の三叉-自律神経反射を介する血流動態の加齢による変調とそのメカニズム ○三戸 浩平, 佐藤 寿哉, ラマダニラトナ, 石井 久淑 (北医療大 歯 生理)
P3-57	アドレノメデュリンによる T1Rs 非依存性経路を介するマウス鼓索神経糖応答への影響 ○岩田 周介 ^{1,2} , 井上真由子 ³ , 吉田 竜介 ⁴ , ニノ宮裕三 ^{2,5} (¹ 九大 院歯 口腔機能解析, ² 九大 五感応用デバイス研究開発セ 感覚生理・医療応用センシング部門, ³ 九大 院歯 OBT 研究セ, ⁴ 岡大 院医歯薬 口腔生理, ⁵ モネル化学感覚研)
P3-58	4-nitroquinoline 1-oxide 誘発マウス舌癌における T 細胞および NK 細胞の抗腫瘍作用 ○山口 花 ¹ , 森 一将 ² , 廣井 美紀 ¹ , 松本 安吏 ² , 嶋田 淳 ² , 大森 喜弘 ¹ (¹ 明海大 歯 微生物, ² 明海大 歯 口外 I)
P3-59	舌粘膜病変における異型上皮形質の比較病理学的解析 ○佐藤かおり ¹ , 工藤 朝雄 ^{1,2} , 田谷 雄二 ¹ , 添野 雄一 ¹ (¹ 日歯大 生命歯 病理, ² (有) パソラボ)
P3-60	ALOX は ρ^0 細胞において脂質過酸化と過酸化水素取り込みを制御する ○富田 和男 ¹ , 高 裕子 ^{1,2} , 五十嵐健人 ¹ , 西谷 佳浩 ² , 佐藤 友昭 ¹ (¹ 鹿大 院医歯 歯科応用薬理, ² 鹿大 院医歯 歯科保存)
P3-61	低酸素誘導性 HIF-1 α 及び ZEB1 がエナメル上皮腫の悪性形質転換に重要である ○吉本 尚平 ¹ , 森田 浩光 ² , 橋本 修一 ¹ (¹ 福歯大 病理, ² 福歯大 総合歯)
P3-62	BMP9 刺激によって誘導される Hif-1 α は解糖系酵素 PDK1 の発現を介して骨芽細胞分化に必須の役割を果たす ○松口 徹也 ¹ , 千葉 紀香 ¹ , 成 昌奂 ² , 大西 智和 ¹ (¹ 鹿大 院医歯 口腔生化学, ² 鹿大 院医歯 顎顔面外科)
P3-63	低出力パルス超音波 (LIPUS) の半月板修復効果とその作用機序 - CCN2/CTGF の関与 ○青山絵理子 ¹ , 西田 崇 ^{1,2} , 久保田 聡 ² , 滝川 正春 ¹ (¹ 岡大 医歯薬 歯先端研セ, ² 岡大 医歯薬 口腔生化学)
P3-64	骨芽細胞の機械感受性イオンチャネル発現 ○永井佐代子 ^{1,2} , 戸田はる菜 ¹ , 大山 定男 ¹ , 大房 航 ¹ , 東川明日香 ¹ , 木村 麻記 ¹ , 澁川 義幸 ¹ , 片倉 朗 ² (¹ 東歯大 生理, ² 東歯大 口腔病態外)
P3-65	両生類下顎骨における Notch シグナルおよび甲状腺ホルモンの発現について ○三輪 容子, 浅田奈緒美, 春原 正隆 (日歯大 生命歯 解剖 I)
P3-66	鎖骨頭蓋異形成症由来 iPS における ncRNA の発現 ○小野寺晶子 ¹ , 大木 章生 ² , 斎藤 暁子 ¹ , 小倉 弘之 ² , 中村 貴 ¹ , 西井 康 ² , 末石 研二 ² , 東 俊文 ¹ (¹ 東歯大 生化学, ² 東歯大 歯科矯正)
P3-67	BMP-9 による骨芽細胞分化における Egr-1 の役割の解析 ○千葉 紀香, 大西 智和, 松口 徹也 (鹿大 院医歯 口腔生化学)

P3-68	<p>Apigenin modulates inflammation and signaling regulation for reparative dentin formation in exposed pulp ○Chang-Yeol Yeon¹, Nirpesh Adhikari¹, Yam Prasad Aryal¹, Eui-Seon Lee¹, Chang-Hyeon An¹, Hitoshi Yamamoto², Jae-Kwang Jung¹, Gil-Saeng Jeong³, Jung-Hong Ha¹, Jae-Young Kim¹ (1Sch Dent, IHBR, Kyungpook Natl Univ, 2Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll, 3Div Pharmacognosy, Keimyung Univ)</p>
P3-69	<p>Facilitation of bone healing capacity through modulation of Meox2 expression ○Tae-Young Kim¹, Nirpesh Adhikari¹, Youngkyun Lee¹, Jae-Kwang Jung¹, Chang-Hyeon An¹, Wern-Joo Sohn², Hitoshi Yamamoto³, Il-Ho Jang⁴, Seo-Young An¹, Jae-Young Kim¹ (1Sch Dent, IHBR, Kyungpook Natl Univ, 2Pre Major of Cosmetics and Pharmaceut, Daegu Haany Univ, 3Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll)</p>

10月12日(土) 17:50~18:40 ポスター会場

学部学生ポスター

PS1-01	<p>ガッタパーチャポイントへのフローシステムによるバイオフィーム形成解析 ○池澤 毅輔¹, 古川 喜大¹, 田中 雄祐¹, 葛城 啓彰² (1日歯大新潟 生命歯 3年, 2日歯大新潟 生命歯 微生物)</p>
PS1-02	<p>ビルベリー果実に含まれる天然物化合物の口腔微生物に対する抗菌活性の測定 ○佐藤祐太郎¹, 石原 和幸² (1東歯大 歯, 2東歯大 微生物)</p>
PS1-03	<p>代表的歯周病原菌である <i>Porphyromonas</i> 属を抑制するプロバイオティクス菌代謝産物の探索 ○白井 大地, 酒井 湧志, 河井 智美, 前田 伸子, 大島 朋子 (鶴大 歯 微生物)</p>
PS1-04	<p>マウス壊死性筋膜炎モデルの感染局所における <i>Streptococcus pyogenes</i> の遺伝子発現解析 ○花田 知己, 広瀬雄二郎, 山口 雅也, 住友 倫子, 中田 匡宣, 川端 重忠 (阪大 院歯 口腔細菌)</p>
PS1-05	<p>緑膿菌バイオフィーム形成菌の抗菌薬抵抗性に関わる遺伝子について ○喜田 悠太¹, 村上 圭史², 藤猪 英樹² (1徳大 歯 4年, 2徳大 院医歯薬 口腔微生物)</p>
PS1-06	<p>超短時間組織透明化法とがんの診断および治療薬開発への応用 ○金久保千晶¹, 横山 真子¹, 吉田 光希², 佐藤 惇², 安彦 善裕², 谷村 明彦¹ (1北医療大 歯 薬理, 2北医療大 歯 病理)</p>
PS1-07	<p>舌表在性病変における上皮細胞形質の解析 ○廣原つかさ^{1,2}, 田谷 雄二¹, 佐藤かおり¹, 島津 徳人³, 添野 雄一¹ (1日歯大 生命歯 病理, 2麻布大 生命・環境科学 臨床検査技術, 3麻布大 生命・環境科学 食品生理)</p>
PS1-08	<p>アレンドロネート投与が骨特異的血管に与える影響について ○吉野 弘菜¹, 吉田 泰士², 宮本 幸奈³, 邱 紫旋³, 網塚 憲生³, 長谷川智香³ (1北大 歯 5年, 2北大 歯 6年, 3北大 院歯 硬組織発生物)</p>
PS1-09	<p>脂肪細胞分化に対する低出力パルス超音波(LIPUS)の抑制メカニズムの解明 ○橋谷 智子¹, 西田 崇², 長尾有里香¹, 滝川 正春³, 久保田 聡^{2,3} (1岡大 歯, 2岡大 院医歯薬 口腔生化, 3岡大 院医歯薬 歯先端研セ)</p>
PS1-10	<p>環状オリゴ糖による歯の着色予防の検討 ○廣瀬 趙司¹, 吉川 美弘², 津田 進³, 堂前 英資², 鎌田 愛子², 池尾 隆² (1大歯大, 2大歯大 生化, 3大歯大 化学)</p>

抄 録



JAOB JAPANESE ASSOCIATION FOR
ORAL BIOLOGY since 1958

ロッテ基金特別講演 (PL1, PL2)

ライオン学術賞受賞講演 (L1)

歯科基礎医学会学会奨励賞受賞講演 (Y1~Y3)

メインシンポジウム (MS1~MS3)

日韓シンポジウム (JKS1)

歯科基礎医学会学術シンポジウム (KS1)

先端歯学国際教育研究ネットワークシンポジウム (AD1)

2040年への歯科イノベーションロードマップ キックオフシンポジウム (KS1)

日本学術会議シンポジウム (CS1)

ランチョンセミナー (LS1, LS2)

歯科基礎医学会・日本唾液腺学会共催シンポジウム (KDS1)

アップデートシンポジウム (US1~US7)

一般演題 (口演)

一般演題 (ポスター)

PL1 複合組織エンジニアリングをめざして：時計遺伝子による細胞分化制御

○西村 一郎

カリフォルニア大ロサンゼルス校歯, ワイントロープ再生生体工学研究所

歯科臨床のミッションは、患者のクオリティオブライフの向上にあるが、失われた口腔顎顔面組織の形態および機能の回復は大きな治療目的になっている。チャールスダーウィンは *The Expression of the Emotions in Man and Animals* (1872) で、顔による感情表現を獲得した過程でヒトは進化したと提唱している。この人間の尊厳にさえ深く関わる口腔顎顔面組織の機能は、歯牙、歯槽骨といった硬組織に限らず、歯肉、歯根膜さらに表情筋や運動神経、感覚神経を含む複合組織から成立していると考えられる。組織工学は細胞、マトリックスそして活性因子をコンセプトの中心にして発展してきた。しかしながら、複合組織エンジニアリングにはパラダイムシフトが必要と考えている。

2017年、ノーベル医学生理学賞が体内時計の分子生物学的メカニズムの解明に授与された。体内時計は脳下垂体にある *suprachiasmatic nuclei* で生体ホメオスタシスを厳密に制御している。末梢組織、たとえば骨髄由来の間葉系システムセルも独自の時計遺伝子を発現している。さらに、チタンインプラントのような環境因子が時計遺伝子発現、とくに *Npas2* に大きく影響することがわかった。体内時計は生体組織全てにあり、その制御メカニズムが各々の細胞分化に関与すると考え、体内時計を対象にした複合組織エンジニアリングを提唱する。

【利益相反】 著者は利益相反状態にあります。

Composite tissue engineering: Chronotherapy for *in situ* cell differentiation

○Nishimura I

Univ Cal Sch Dent, Weintraub Cent for Reconst Biotechnol

The mission of clinical dentistry is to improve the quality of life of our patients. In particular, we aim to restore the structure and function of lost tissue in the oral and maxillofacial region. In 1872, Charles Darwin proposed in his seminal book: “The Expression of the Emotions in Man and Animals” that humans evolved through the acquisition of the ability to express emotions in the face. This core human activity is uniquely facilitated by the composite facial tissues that are composed of the complex neuro-muscular network and cranio-facial skeletal and oral tissues. The current tissue engineering concept with cells, scaffolds and biological factors provides an achievable framework. However, a new paradigm is acutely needed to reach the composite tissue engineering.

Chronobiology has stemmed from the core clock molecular mechanism of *suprachiasmatic nuclei* of hypothalamus and has been considered a highly stable homeostatic mechanism. Recently, we demonstrated that bone marrow derived mesenchymal stem cells (MSC) possessed the peripheral clock mechanism, which was unexpectedly affected by the environmental cue, such as the exposure to titanium substrate. One of the core clock genes, Neuronal PAS Domain 2 (*Npas2*) was found sensitively modulated in adult tissues. This presentation postulates a new avenue of research in peripheral tissue chronobiology and the potential of chronotherapy for composite tissue engineering.

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

PL2 共生進化の生存戦略と 21 世紀病の逆襲

○井上 正康

健康科学研究所 & シンビオーシス研究所, 大阪市大

38 億年前に誕生した嫌気的生命体は、代謝物を介して互助会的細菌社会を形成しながら多細胞生物へ進化し、カンブリア爆発を契機に多様な生命世界を創生した。食物連鎖系の頂点に立つホモ・サピエンスの基本的設計図もカンブリア紀に構築され、現代人もその仕組みをフル稼働させながら生きている。人体は約 40 兆個の自己細胞と数百兆個の共生微生物が構築するハイブリッドな生命体であり、その共生関係により好気的生命が維持されている。微生物には病原性を有するモノも多いので、人類の歴史は免疫系の進化と軍事訓練による病原体との戦いの歴史でもあった。第 2 次大戦後に地球人口が激増すると同時に、先進国では寿命が著明に延長した。この背景には抗菌薬や衛生思想の発展による感染症対策と乳幼児死亡率の低下、及び食環境の改善が大きく寄与してきた。終戦直後には青バナを垂らした緑膿菌感染児童や寄生虫感染者が多かったが、今日の先進国ではこの様な患者は稀である。産婆さんにより長い間行なわれてきたお産が戦後には病院での産科医の仕事となり、無痛分娩や帝王切開の頻度も増加してきた。これと時期を同じくして病的肥満や糖尿病、花粉症などの炎症性アレルギー疾患、自閉症などのメンタル疾患などが激増してきた。遺伝子解析技術の飛躍的進歩により、消化管をはじめとする人体には無数の細菌が共生している事やそのバランス異常が戦後に急増した新興性疾患に関与している可能性が明らかになり、これらの“21 世紀病”が腸内細菌移植により劇的に改善される事から共生微生物との dysbiosis がこれらの病態の基盤である可能性が示唆されている。ヒトは無意識的に喜怒哀楽を“腹の虫”として表現してきたが、腸内細菌代謝がその分子論的基盤である可能性も判明しつつある。本講演では遺伝子継承における微生物共生の意味論と腸内細菌移植による難治性疾患治療例などを紹介し、現代医療の問題点を論ずる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Symbiotic evolution of life and pitfalls of modern medicine

○Inoue M

Health Sci Lab & Symbiosis Inst, Osaka City Univ Med Sch

The majority of bacteria inhabiting in the gastrointestinal tract including oral cavity, stomach, small and large intestines is anaerobic in nature and, hence, it has been technically difficult to analyze their roles and metabolic properties by cell culture. Recent studies using molecular technology including genomics and metabolomics revealed that human body is a super-hybrid system consisted of 37-trillion of somatic cells and several hundred-trillion of bacteria inhabiting in the skin, gastrointestinal tract, uterus and other tissues. Molecular analysis using germ-free animals and in human subjects revealed that the symbionts in the intestinal tracts plays critical roles in the regulation of immune network system, energy metabolism and reproduction system in human. Dysbiosis of commensal bacteria was found to underlie the pathogenesis of various diseases including abnormal obesity, allergic diseases and mental disorders. The mechanism of symbiosis, dynamic changes in the balance of enteric flora in normal and pathologic subjects, and recent translational research about fecal microbiota transplantation (FMT) in the treatment of patients with intractable diseases will be discussed.

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

L1 唾液分泌障害への再生医療の応用

○美島 健二

昭大 歯 口腔病理

口腔乾燥症の潜在患者数は、欧米で報告された疫学調査から算出すると日本国内で約3,000万人と推定されている。口腔乾燥症の原因としては、口腔癌の放射線治療や難治性の自己免疫疾患であるシェーグレン症候群（SS）、糖尿病や薬剤の副作用などがあげられ、特に、頭頸部癌の放射線治療後やSSでみられる唾液腺機能障害では、唾液分泌促進薬の服用が治療法として行われているが、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。これまで我々は、重篤な唾液分泌障害に対して細胞治療の可能性を検討してきた。その中で、マウスの唾液腺組織に存在する血管内皮様の間質細胞を用いた細胞治療が、放射線照射による唾液分泌障害に奏功することを報告した。また、そのメカニズムについても解析を進め、移入細胞から分泌されるクラステリンが酸化ストレスを介した既存の腺組織への障害を抑制することを明らかにした。さらに、CD133をマーカーとして唾液腺幹細胞が単離可能なことを示し、その幹細胞性の維持にSox9が重要な役割を果たしていることを報告した。一方、多能性幹細胞を用いた3次元唾液腺の作製にも着手し、唾液腺発生に重要な役割を担う転写因子としてSox9とFoxc1を同定した。当該遺伝子とオルガノイド培養システムを応用することにより、マウスES細胞から唾液腺オルガノイドの作出に成功した。本唾液腺オルガノイドは生体内の唾液腺の動態をよく反映しており、唾液腺の発生・再生研究、唾液腺疾患モデルおよび治療モデルへの応用が期待される。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Application of regenerative medicine for salivary gland hypofunction

○Mishima K

Div Pathol, Oral Diag Sci, Showa Univ Sch Dent

Dry mouth is possibly caused by Sjögren's syndrome (SS), radiation therapy for head and neck cancer, and side effects of medications. The sialagogues, such as pilocarpine and cevimeline, are commonly used for the treatment of severe cases due to SS and radiation therapy. However, there are some cases, in which these medications have no effects. Cell transfer therapy has been applied for these cases. We have reported that endothelial-like cells could restore irradiation-induced hypofunction of salivary glands via a soluble factor, clusterin. Furthermore, CD133 was identified as a new marker molecule of salivary gland stem cell. CD133-positive cells had stem cell ability that was regulated by Sox9. We have also tried to develop an *in vitro* cell culture system that can reconstitute three-dimensional salivary glands. Sox9 and Foxc1 were identified as important genes to differentiate mouse embryonic stem cell-derived oral ectoderm into salivary gland placode. Using these genes and organoid culture system, we were succeeded in generating salivary gland organoids that showed a similar morphology and gene expression profile to those of the embryonic salivary gland rudiment of normal mice. These organoids are expected to be a promising tool for disease modeling, drug discovery, and regenerative medicine in salivary glands.

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

Y1 DKK3 過剰発現は頭頸部扁平上皮癌細胞の悪性度を増加させる

○片瀬 直樹

長大 生命医科学域 口腔病理

我々は頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）特異的ながん関連遺伝子の検索から、DKK3 遺伝子について検討を行ってきた。DKK3 の属する DKK ファミリーにコードされる分泌型タンパクは、Wnt ligand のレセプターである LRP5/6 に競合的に結合し、細胞のがん化に関わる Wnt signal を抑制する。DKK3 は LRP5/6 に結合しないが、細胞内で Wnt signal の下流にある β -catenin の分解を促進する。この Wnt 阻害作用と、消化管腺癌を始めとする多くのがんで発現低下していることから、DKK3 はがん抑制遺伝子とされている。

しかし我々はこれまでに「HNSCC では DKK3 の発現は特異的に高く、かつ DKK3 発現群は転移が多く予後不良となること」、「HNSCC で DKK3 を siRNA でノックダウンすると腫瘍細胞の浸潤と遊走が有意に低下すること」を報告しており、DKK3 が HNSCC 特異的にがんの進展に関与する可能性を指摘している。

本研究では HNSCC 由来細胞株に DKK3 を過剰発現させ、その影響を検討した。HSC-3 細胞に DKK3 発現プラスミドをトランスフェクションし発現を増大させると、腫瘍細胞の増殖・浸潤・遊走およびヌードマウス背部皮下での腫瘍形成能が全て有意に増大した。DKK3 過剰発現細胞では Cyclin D1 や c-myc などの Wnt signal のターゲット遺伝子の発現が有意に増加しており、DKK3 が Wnt signal を活性化しているかに思われたが、western blotting および reporter assay からこれらは Akt の活性化によるものであることが示された。

これらから、DKK3 は HNSCC 特異的に Akt を活性化して腫瘍の悪性度を規定することが強く示唆され、治療のターゲットとして有望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。

DKK3 overexpression increases the malignant properties of head and neck squamous cell carcinoma cells

○Katase N

Dept Oral Pathol Inst Biomed Sci Nagasaki Univ

DKK3, a member of the dickkopf Wnt signaling pathway inhibitor family, is believed to be a tumor suppressor because of its reduced expression in cancer cells. However, our previous studies have revealed that DKK3 expression is predominantly observed in head and neck/oral squamous cell carcinoma (HNSCC/OSCC). Interestingly, HNSCC/OSCC patients with DKK3 expression showed a high rate of metastasis and poorer survival, and siRNA-mediated knockdown of DKK3 in HNSCC-derived cancer cell lines resulted in reduced cellular migration and invasion. From these data, it was hypothesized that DKK3 might exert an oncogenic function specific to HNSCC. In the present research, we investigated the effects of DKK3 overexpression. DKK3 overexpression by transfection of expression plasmid resulted in significant elevation of cellular proliferation, migration, and invasion, as well as increased mRNA expression of cyclin D1 and c-myc. Western blot analyses revealed that phosphorylation of Akt (S473) and c-Jun (Ser63) was elevated. From these results, we demonstrated that DKK3 might contribute to cellular proliferation, invasion, migration, and tumor cell survival in HNSCC cells through a mechanism other than the canonical Wnt signaling pathway, which might be attributed to Akt signaling.

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

Y2 肺炎重症化における好中球エラスターゼの病原性解析

○土門 久哲

新潟大 院医歯 微生物感染症

主たる肺炎起因菌である肺炎球菌が肺組織に感染し、重症化すると、肺組織傷害が引き起こされることが報告されている。このメカニズムとして、①肺炎球菌が自己溶菌により菌体内病原因子であるニューモリシンを漏出すること、②ニューモリシンにより好中球が傷害を受け、好中球内部からプロテアーゼの一種であるエラスターゼが漏出し、③肺組織がエラスターゼにより傷害されて重症化する、という多段階の病態進行モデルを明らかにしている。本研究では、好中球から漏出するエラスターゼが宿主の自然免疫応答に影響を与えるのではないかと仮説を立て、解析を行った。通常、免疫細胞は肺炎球菌等の病原体を Toll 様受容体で認識し、細胞内シグナルを活性化することで、炎症性サイトカインを産生する。しかしながら、エラスターゼを作用させたマクロファージに肺炎球菌を添加すると、エラスターゼ非作用群と比較して培養上清中のサイトカイン濃度が著しく低下した。そのメカニズムとして、エラスターゼが Toll 様受容体を分解し、転写因子である NF- κ B の活性化を阻害することで、炎症性サイトカインの転写を抑制することを明らかにした。さらに、マクロファージから産生される炎症性サイトカインに対しても、エラスターゼは分解作用を示した。マウス肺炎球菌性肺炎モデルにおいても、肺胞内のエラスターゼ活性が上昇することで、肺炎球菌が免疫細胞による排除から逃れた。その結果、肺炎球菌が血液中へ侵入し、侵襲性感染症を誘導した。一方、エラスターゼ特異的な阻害剤を投与したマウスでは、血液中における肺炎球菌の検出率が減少した。以上の結果から、肺炎球菌は生体防御因子の漏出を誘導することにより、肺組織における自然免疫応答を攪乱し、肺胞上皮バリアを突破する可能性が示唆された。

【利益相反】 開示すべき利益相反はありません。

Functional analysis of neutrophil elastase in pneumococcal pneumonia

○Domon H

Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Excessive activation of neutrophils results in the release of neutrophil elastase (NE), which leads to lung injury in severe pneumonia. Previously, we demonstrated an immune subversion mechanism involving microbial exploitation of this NE ability, which eventually promotes disruption of the pulmonary epithelial barrier. In the present study, we investigated the effect of NE on host innate immune response. Macrophages were stimulated with heat-killed *Streptococcus pneumoniae* in the presence or absence of NE followed by analysis of toll-like receptor (TLR) and cytokine expression. Additionally, the biological significance of NE was confirmed in an *in vivo* mouse intratracheal infection model. NE downregulated the gene transcription of inflammatory cytokines in macrophages through the cleavage of TLRs. Additionally, NE cleaved inflammatory cytokines. In a mouse model of intratracheal pneumococcal challenge, administration of an NE inhibitor significantly increased proinflammatory cytokine levels in bronchoalveolar lavage fluid, enhanced bacterial clearance, and improved survival rates. Our study indicates that NE subverts the innate immune response and that inhibition of this enzyme may constitute a novel therapeutic option for the treatment of pneumococcal pneumonia.

Conflict of Interest: The author declares no conflict of interests associated with this study.

Y3 骨免疫学の新展開

○塚崎 雅之^{1,2}

¹東大 院医 免疫, ²医科歯科大 院医歯 細菌感染制御

歯周病や関節リウマチ, がんの骨転移といった炎症性骨疾患の病態を理解するためには, 免疫系が骨破壊を誘導するメカニズムの解明が重要な課題となる。「骨免疫学」は, 免疫系が骨に与える影響を探索する過程で発展してきた領域であるが, 近年, 骨構成細胞が免疫系に及ぼす影響が解明されつつあり, 骨と免疫は双方向性に制御し合う一つのシステムであることが浮き彫りとなってきた。本講演では, 私がこれまでに行ってきた炎症性骨破壊の機序に関する研究と, 現在進行中の研究内容について概説し, これからの骨免疫学のゆくえを展望したい。

(参考文献)

1. Tsukasaki M et al., *Nature Reviews Immunology* doi: 10.1038/s41577-019-0178-8 (2019)
2. Tsukasaki M et al., *Nature Communications* 16;9(1):701 (2018)
3. Tsukasaki M et al., *J Bone Miner Res.* Mar;32(3):434-439. (2017)
4. Tsukasaki M et al., *Biochem Biophys Res Commun.* 425:390-392 (2012)
5. Tsukasaki M et al., *Biochem Biophys Res Commun.* 410: 766-770 (2011)

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

New developments in osteoimmunology

○Tsukasaki M^{1,2}

¹Dept Immunol, Grad Sch Med and Fac Med, The Univ of Tokyo, ²Dept Bacterial Infection and Host Response, Grad Sch of Med Dent Sci, Tokyo Med Dent Univ

Skeletal homeostasis is maintained by the balanced action of bone cells such as osteoclasts, osteoblasts and osteocytes, yet subverted by aberrant and/or prolonged immune responses under pathological conditions. The field of “osteoimmunology” was developed to explore the effect of immune system on bone in inflammatory diseases such as periodontitis and rheumatoid arthritis. However, osteo-immune interactions are not restricted to the unidirectional effect of immune system on bone metabolism. Recent studies have emphasized the dynamic reciprocal interactions between bone and immune cells in various settings such as tumor progression, sepsis and host defense against oral microbiota. In this talk, I will introduce new developments in osteoimmunology and discuss future perspective of this field.

Conflict of Interest: The author declares no conflict of interest.

MS1-1 RANKL をターゲットとした骨形成促進薬の可能性

○青木 和広

医科歯科大 院医歯 口腔基礎工

我々は、経口投与のお薬と抗体医薬の長所を併せ持つ中分子量ペプチドに属する receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)結合ペプチドを局所の骨形成促進薬として開発するために研究を進めてきた。このペプチドは、RANKL に結合することから骨吸収を抑制することは予想できたが、骨形成を促進するメカニズムに関しては、東京大学医学部薬剤部やオリエンタル酵母工業など多くの研究所との共同作業により近年その概要が明らかとなってきた。

本シンポジウムでは、1. RANKL 結合ペプチドの開発経緯とその骨吸収抑制作用、2. 骨芽細胞膜上の RANKL 分子を介した骨形成促進作用、3. RANKL に結合するが骨形成を促進しない osteoprotegerin (OPG) と RANKL 結合ペプチドとの違いという3つ観点から RANKL 分子が局所の骨形成を促進させる創薬ターゲットとして期待される理由に関して議論したい。

参考文献

Aoki et al *J. Clin. Invest.* 116:1525-1534 (2006)

Ikebuchi et al *Nature* 561, 195-200 (2018)

Sone et al *Biochem Biophys Res Commun.* 509, 435-440 (2019)

【利益相反】 利益相反はありません。

Feasibility of the drug development to increase local bone mass targeting on the RANKL molecule

○Aoki K

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

We have investigated the RANKL-binding peptide, which belongs to the middle-molecular-class peptide whose characteristics has many benefits of both the oral medicine and the antibody medicine, developing as a stimulator of local bone formation. These peptides have already been shown to inhibit bone resorption and the stimulatory mechanism of bone formation was recently clarified due to the collaborations with many research institutes.

Herein I would like to shear three issues in this symposium; 1) the history of the RANKL-binding peptide and the inhibitory effects on bone resorption, 2) the role of the membrane-bound RANKL on osteoblasts to increase bone formation, 3) the differences between osteoprotegerin and the peptide on bone formation both of which bind to RANKL.

References:

Aoki et al *J. Clin. Invest.* 116:1525-1534 (2006)

Ikebuchi et al *Nature* 561, 195-200 (2018),

Sone et al *Biochem Biophys Res Commun.* 509, 435-440 (2019)

Conflict of Interest: The author declares no conflict of interests.

MS1-2 腸管ならびに呼吸器粘膜における RANKL-RANK-OPG による M 細胞の分化制御機構

○木村 俊介^{1,2}, 中村 有孝², 小林 伸英², 岩永 敏彦¹, 長谷 耕二²

¹北大 院医 組織細胞, ²慶大 薬 生化

M 細胞は腸管腔内の抗原を取り込み上皮の免疫細胞へと受け渡す免疫監視を担当し、粘膜免疫応答の開始に働く細胞である。取り込みに特化した M 細胞の物理的バリアは脆弱で、病原性細菌の侵入口となる。このような二面性を持つ M 細胞の数は厳密に制御され、リンパ濾胞上皮に局限し、そのうちの 10% 程度に抑えられている。

RANKL シグナルは M 細胞分化を開始する因子である。我々は M 細胞の分化に RANKL シグナル下流の非古典的 NF κ B 経路が必要であることを報告した。この経路の活性化により転写因子 Spi-B が発現し M 細胞への分化が決定する。近年我々は転写因子 Sox8 が M 細胞の機能的な成熟に必須であることを示した。Sox8 欠損マウスでは GP2 陽性の成熟 M 細胞の出現が減少し、管腔内物質の取り込みも低下する。そして、離乳期における IgA 産生が低下することから、M 細胞からの抗原取り込みは離乳後の速やかな免疫の確立に必要であると考えられる。

成熟 M 細胞は腸管の部位で大きく異なり、盲腸のリンパ濾胞上の M 細胞は大部分が未成熟な M 細胞のままである。我々は M 細胞が OPG を分泌することを見だし、盲腸 M 細胞で OPG が強く発現していることを明らかにした。OPG 欠損マウスでは M 細胞数が増加することでサルモネラ菌の感染に対して脆弱性を示したが、一方で、腸内細菌特異的 IgA, IgG の産生が増大し、実験的大腸炎モデルの症状が緩和された。M 細胞は OPG を分泌することで、RANKL シグナルを抑制し数を自己調節し、その制御は物質の上皮通過を制御し感染と免疫応答バランスを調節していると考えられる。

M 細胞は呼吸器粘膜にも存在するが、その性状は不明であった。我々はマウス下気道において M 細胞の性状解析を行い、RANKL シグナルによって分化が制御されていることを見出した。呼吸器 M 細胞の研究についてもあわせて紹介していきたい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する

RANKL-RANK signaling regulates M-cell differentiation in the mucosal epithelia

○Kimura S^{1,2}, Nakamura Y², Kobayashi N², Iwanaga T¹, Hase K²

¹Lab of Histol Cytol, Grad Sch Med, Hokkaido Univ, ²Div Biochem, Fac Pharma, Keio Univ

Microfold (M) cells are responsible for antigen uptake to initiate mucosal immune responses. Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) plays a critical role in the differentiation of M cells. The molecular machineries by which M-cell number and maturation are restricted, as well as its physiological significance, have remained unclear.

We demonstrated that Sox8, a member of the SRY-related HMG box transcription factor family, is specifically expressed by M cells in the intestinal epithelium. Genetic deletion of *Sox8* causes a marked decrease in the number of mature M cells, resulting in reduced antigen uptake in Peyer's patches. *Sox8*-deficient mice showed low number of mature M cells and, consequently, attenuated germinal center reactions and antigen-specific IgA responses.

M cells express osteoprotegerin (OPG), a soluble decoy receptor of RANKL. OPG deficiency increased the number of M cells, and enhanced commensal bacterium-specific immunoglobulin production. Accordingly, the ablation of OPG ameliorated disease symptoms in mice with experimental colitis. However, OPG-deficient mice were highly susceptible to infection with *Salmonella*, which translocated into host tissue via M cells. Thus, OPG-dependent self-regulation of M-cell differentiation is essential for maintenance of the equilibrium between the risk of infection and ability to perform immunosurveillance at the mucosal surface.

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

MS1-3 オステオプロテゲリンは心不全の治療標的になる

○鶴田 敏博¹, 宇田川信之², 北村 和雄¹

¹宮崎大 医 内科 循環体液制御, ²松歯大 歯 口腔生化

オステオプロテゲリン(OPG)は心血管組織に発現し、骨代謝のみならず循環調節にも関与している可能性がある。我々は昇圧因子であるアンジオテンシン II と RANKL-RANK-OPG シグナルが心臓リモデリングへ影響するかを検討した。心臓カテーテル検査中に左冠状動脈入口部および冠静脈洞で同時採血した。OPG 濃度は冠静脈洞で入口部より高く、心臓が OPG の産生源であることを明らかにした。また、アンジオテンシン II 拮抗薬を元々内服している患者では冠循環での OPG 濃度の増加が軽微であったため、OPG 産生がアンジオテンシン II に依存していることが示唆された。ウイスターラットへアンジオテンシン II を持続投与した。同ラットの血圧は上昇し、心肥大や間質の線維化を呈した。肥大した左室壁内の OPG 遺伝子発現は上昇し、アンジオテンシン II 拮抗薬投与により低下した。さらに、培養心線維芽細胞にアンジオテンシン II を添加すると速やかに OPG 遺伝子発現が上昇したが、アンジオテンシン II 拮抗薬の前処置で低下した。OPG の病態生理学的役割を明らかにするため OPG 遺伝子欠損マウスを用いて検討した。OPG 遺伝子欠損マウスは野生型マウスに比して血圧が高値で心肥大を呈し、心臓超音波検査では左室腔は拡大し収縮力は低下した。アンジオテンシン II をこれらのマウスに投与すると、容易に心不全を呈した。間質の線維化が弱く、左室壁内のアポトーシス陽性細胞数やマトリックスメタロプロテアーゼ活性が増加し、ERK や JNK のリン酸化が亢進した。以上から、OPG は心保護効果を発揮することが明らかとなり、心不全の新たな治療標的となる可能性がある。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Osteoprotegerin, a potential therapeutic target for heart failure

○Tsuruda T¹, Udagawa N², Kitamura K³

¹Dept Inter Med, Circulatory and Body Fluid Regulation, Fac Med, Univ of Miyazaki, ²Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ

Osteoprotegerin (OPG) is expressed in cardiovascular system, and it may regulate not only bone metabolism but also contribute to the remodeling of heart. We measured the OPG concentration in the plasma at the orifice of left coronary artery and coronary sinus, simultaneously. OPG step-up was observed during the coronary circulation, suggesting that heart is a source of OPG. In rats, angiotensin II stimulated the OPG synthesis in the hypertrophied heart, but the extent was decreased by the angiotensin II type 1 receptor blocker. In cultured cardiac fibroblasts, angiotensin II stimulated the synthesis of OPG gene through the angiotensin II type 1 receptor. OPG-deficient mice displayed the elevated systemic blood pressure, left ventricular hypertrophy with reduced contractility, compared with wild-type mice. Angiotensin II administration to the mice accelerated the heart failure, and this was accompanied by the increased apoptotic cell number, activation of matrix metalloproteinase, and increased ERK and JNK phosphorylation. These results suggest that OPG has protective roles against angiotensin II, and OPG may be a potential therapeutic target for heart failure.

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

MS1-4 骨粗鬆症治療薬候補としての Siglec-15 抗体の研究

○津田 英資¹, 福田 千恵¹, 宇田川信之², 高橋 直之², 長谷川智香³, 網塚 憲生³,
佐藤 大⁴, 高畑 雅彦⁴

¹第一三共(株)スペシャルティ第一研, ²松歯大 総歯研, ³北大 院歯, ⁴北大 院 整形外科

Siglec-15 は Siglec ファミリーに属する一回膜貫通型のシアロ糖鎖結合蛋白質である。我々は Siglec-15 が破骨細胞(Oc)の分化成熟に伴って高発現することを発見した。さらに Siglec-15 抗体を作製して *in vitro* 破骨細胞形成系に添加すると、Siglec-15 抗体が破骨細胞分化における細胞融合と骨吸収を強く抑制することを明らかにした。Siglec-15 ノックアウトマウスを作製して解析した結果、このマウスはマイルドな骨大理石病のフェノタイプを呈し、その一方で骨のサイズと全身長に変化は無く、骨以外の組織には全く異常は観察されなかった。抗 Siglec-15 ラット抗体を作製して、その薬効を正常成長期動物と骨粗鬆症モデル動物を用いて検討した。その結果、(1) Siglec-15 抗体投与により骨吸収マーカーは強く抑制されるが、骨形成マーカーの抑制はマイルドであること、(2) Siglec-15 抗体の投与により強力な骨密度と骨強度の改善が見られること、(3) Siglec-15 抗体は骨の成長に影響しないことから、Siglec-15 抗体は骨形成が維持でき、成人のみならず小児にも安全に投与できる優れた骨吸収抑制薬になることが期待された。Siglec-15 抗体のこの作用メカニズムを動物実験、及び細胞・分子レベルで解析した結果、(1) Siglec-15 抗体の投与により、二次海綿骨の Oc は数が減少し、小型で扁平化し、さらに骨吸収能の低下が示唆されたが、その一方でそれら小型の Oc の周囲には骨芽細胞(Ob)が観察されること、(2) Siglec-15 抗体を骨髄細胞培養系に添加すると、RANKL 誘導性多核破骨細胞の形成抑制と共に、単核破骨細胞の存在下で Ob の分化成熟の顕著な亢進が見られること、(3) Siglec-15 抗体による骨形成の促進に関わる分子として、Oc が生産する Sclerostin 産生抑制因子 LIF が同定されたこと、等が明らかにされつつある。【利益相反】著者は第一三共の従業員とその共同研究者であり、利益相反状態にあります。

Studies on Anti-Siglec-15 antibody as an agent for osteoporosis treatment

○Tsuda E¹, Fukuda C¹, Udagawa N², Takahashi N², Hasegawa T³, Amizuka N³, Sato D⁴,
Takahata M⁴

¹Spec Med Res Lab 1, Daiichi Sankyo Co., Ltd, ²Div Hard Tissue Res Inst for Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, ³Grad Sch Dent Med, Hokkaido Univ, ⁴Grad Sch Med, Dept Orthopaedic Surg, Hokkaido Univ

Siglec-15, a member of the Siglec family, is a sialic acid-binding protein with one transmembrane domain. We determined that the expression of Siglec-15 increases on osteoclast (Oc) differentiation and maturation. In *in vitro* culture systems, the anti-Siglec-15 antibody (Ab) strongly suppressed cell fusion during Oc maturation and bone resorption. Siglec-15 binds with DAP-12 on the cytoplasmic membrane of Oc and transduces a signal leading to differentiation and maturation of Oc. Siglec-15 homozygous knockout mice showed a mild osteopetrotic phenotype. In contrast, no abnormalities were found in the bone and body sizes, tissues, and organs of the knockout mice. We produced an anti-Siglec-15 Ab and the pharmacological effects of the Ab were studied in healthy animals and in animal osteoporosis models. Through our experiments, we determined the following: (1) the anti-Siglec-15 Ab strongly decreased the values of bone resorption markers, whereas the suppression of bone formation markers was moderate; (2) the anti-Siglec-15 Ab strongly ameliorated bone mineral density and bone strength; (3) the anti-Siglec-15 Ab did not affect bone growth. These results indicate that the anti-Siglec-15 Ab would be a potent bone formation-sparing anti-resorptive agent for adult and juvenile patients. Studies on the mechanism of action of the anti-Siglec-15 Ab in organismal, cellular, and molecular levels determined the following: (1) the anti-Siglec-15 Ab decreased the number of small and flat Ocs with low bone-resorbing activity, but osteoblasts (Obs) were observed around the small Ocs; (2) the anti-Siglec-15 Ab inhibited RANKL-induced multinucleated Ocs and strongly accelerated the differentiation and maturation of Obs in the presence of mononuclear Ocs in an *in vitro* bone marrow cell culture; (3) LIF, which inhibits sclerostin production, was produced by Ocs and was identified as the molecule that induces Ob formation via the anti-Siglec-15 Ab. **Conflict of Interest:** Eisuke Tsuda and Chie Fukuda are employees of Daiichi Sankyo Co., Ltd. The remaining authors have financial interest and/or other association with Daiichi Sankyo Co., Ltd.

MS2-1 味蕾細胞分化の調節因子

○三浦 裕仁, 小柳江梨子, 原田 秀逸

鹿大 院医歯 口腔生理

味蕾は、ターンオーバーによって細胞が次々と新しく置き換わりながら、その構造と機能は一定に維持されている。味覚受容体をはじめとして味受容細胞の機能を担う分子に関する研究が進む一方で、味蕾内の未分化な細胞の分子レベルの特徴については未だ不明な点が多い。味蕾を構成する細胞は上皮に存在する幹細胞から生み出されるが、私達は転写因子 Prox1 が分泌性シグナル因子 Sonic hedgehog (Shh) と共に味蕾細胞系譜の極めて初期に発現し始めることを報告した。Prox1 と Shh を共発現する細胞は、胚発生において味蕾原基で最初に検出され、成体の味蕾では味受容細胞の前駆細胞である基底細胞として存在する。味蕾細胞のターンオーバーでは、Shh が味蕾基底細胞という分化の初期段階でだけ一過性に発現するのとは対照的に、Prox1 はすべての味蕾細胞でその成熟過程を通して発現し続ける。一方、Prox1 に続く Skin1a や Mash1 などの転写因子の発現は、味蕾内の一部の細胞に限定されており、それぞれ特定の味に応答する異なる種類の味受容細胞を生み出すように細胞分化を誘導する。味蕾で発現することが明らかにされた転写因子の中で、Prox1 は、唯一、味蕾のほぼ全ての細胞で発現しているが、味蕾におけるその役割は明らかでない。本発表では、味蕾細胞の分化における Prox1 の機能について考察する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Regulatory factors of taste cell differentiation

○Miura H, Koyanagi E, Harada S

Dept Oral Physiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

Taste buds are maintained by continuous cell renewal throughout life. A variety of taste bud cells arise from stem cells that reside in the local epithelium. The molecular properties of immature cells within taste buds remain largely unclear. We previously showed that Prox1 begins to be expressed together with Sonic hedgehog (Shh) very early in the taste bud cell lineage. Prox1 and Shh-coexpressing cells are first detectable in taste bud primordia during embryogenesis. In adulthood, they are expressed in the basal cells of taste buds that are general postmitotic precursors of functional taste receptor cells. In contrast to the transient expression of Shh, Prox1 expression persists throughout the maturation process of taste bud cells. Subsequent expression of transcription factors such as Skn1a and Mash1 is restricted to a subset of taste bud cells and guides the taste cell differentiation to establish distinct type cells, each responding to particular taste qualities. Among transcription factors expressed in taste buds, Prox1 is the only one that found in almost all taste bud cells, but its role in taste buds is unclear. Here, we will discuss the function of Prox1 in the taste bud cell differentiation.

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

MS2-2 味細胞オルガノイドを用いた味細胞分化/増殖に影響を及ぼす因子の探索

○高井 信吾¹, Robert F. Margolskee², Peihua Jiang², 二ノ宮裕三^{2,3}, 重村 憲徳^{1,3}

¹九大 院歯 口腔機能解析, ²モネル科学感覚セ, ³九大 五感応用デバイス研究開発セ

味蕾に含まれる個々の味細胞は絶え間なくターンオーバーを繰り返しているが、味蕾としての恒常性は常に維持されている。この味細胞のターンオーバーは、ホルモンや全身の栄養状態など様々な要因に影響を受けることが予想されるが、その調節メカニズムには不明な点が多い。今回、我々は、全身のエネルギー代謝に重要な役割を担うホルモンであるインスリンとその下流分子に着目し、その末梢味覚器における働きを探索した。RT-PCRと免疫組織化学的解析の結果、インスリンレセプター(IR)はマウス味蕾において甘味感受性味細胞(Tas1R3陽性細胞)や酸味感受性味細胞(GAD1陽性細胞)を含む味蕾全体に広く発現していることがわかった。マウス味幹細胞を採取し3次元培養を行う味蕾オルガノイドを用いた実験の結果、培地中に添加したインスリン濃度依存的にオルガノイドコロニーに含まれる味細胞の数、各種味細胞マーカー mRNA(nucleoside triphosphate diphosphohydrolase-2, Tas1R3, gustducin, carbonic anhydrase 4)の発現量が有意に減少することが明らかとなった。さらに、インスリンシグナリングの下流に存在し、細胞分裂や生存の調節に重要な働きを持つことが知られるmechanistic target of rapamycin (mTOR)のmRNAはマウス味覚上皮、非味覚上皮で発現が見られた。免疫染色、in situ hybridizationの結果mTORのmRNA、タンパク質はTas1R3陽性細胞やGAD1陽性細胞含む味細胞、またLgr5陽性の味幹細胞に広く発現していた。味蕾オルガノイドで、mTOR経路を薬理的に阻害すると、培地に加えたラパマイシン(mTORC1阻害剤)濃度依存的に味細胞の増加、および各種味細胞マーカー mRNAの発現量増加が見られた。以上の結果は、インスリン-mTOR経路が味細胞の分化/増殖を調節に関わる可能性を示唆する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

The functional role of insulin - mTOR signaling in taste bud organoid

○Takai S¹, Margolskee RF², Jiang P², Ninomiya Y^{2,3}, Shigemura N^{1,3}

¹Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, ²Monell Chem Senses Cent, ³R and D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ

Mammalian taste buds maintain their functional features through the continuous cell turnovers. This taste cell turnover might be influenced by various factors, such as hormonal signals and internal nutritional status, but its mechanism has not been studied well. In this study, we focused on insulin, an important hormone in energy metabolism, and its downstream molecules. In RT-PCR and immunohistochemical analysis, insulin receptor (IR) is widely expressed throughout the taste cells, including type II and III taste cells. The experiments with using taste bud organoid, a 3-dimensional taste stem cell culture, revealed that the number of taste cells and mRNA expression levels of taste cell markers in the organoid colonies were significantly decreased in an insulin concentration-dependent manner. Mechanistic target of rapamycin (mTOR), which is downstream of insulin signaling and is known as an important regulator of cell proliferation and survival, was expressed in the gustatory and non-gustatory epithelia of mice including Tas1R3-positive, GAD1-positive taste cells, and Lgr5-positive taste stem cells. Application of mTORC1 inhibitor resulted in a concentration-dependent increase of taste cells in organoid colonies. These results suggest that insulin-mTOR pathway may be involved in regulating the differentiation/proliferation of taste cells.

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

MS2-3 脂肪酸受容体の舌における部位的・時間的機能分担

○安松 啓子^{1,2}, ニノ宮裕三^{2,3}

¹東歯大 口腔科学研究セ, ²九大 五感応用デバイス研究開発セ, ³Monell Cent

過去 10 年間に於いて、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ている。我々は鼓索神経単一線維の中に約 18% 存在する長鎖脂肪酸に最も高い応答頻度を示す神経群 (F-type) を見出し、甘味 (sucrose) やうま味 (monopotassium glutamate, MPG) に最も高い応答頻度を示す神経群 (S-, M-type) の半数以上が脂肪酸に有意な応答を見せたことを報告した。これらの神経群において、GPR120 が脂肪酸情報に関与する可能性も示唆された。舌咽神経に関しては前報にて報告したように、記録した単一線維のうち WT マウスの約 9%, GPR120-KO マウスの約 2% が F-type で、WT と GPR120-KO マウスの S-, M-type の 60% 以上の単一神経において脂肪酸に対する有意な応答が検出された。このように脂肪酸独自の味覚を伝達する神経は、鼓索神経に多く存在し、食品の中の不飽和脂肪酸を選択的に取り込むために機能している可能性が示唆された。

さらに、CD36 と GPR40 に関しても鼓索神経と舌咽神経単一神経の脂肪酸応答への関与を検索するために、GPR120-KO マウスの残存脂肪酸応答に対する GPR40 と CD36 の抑制剤の効果を検証した。その結果、GPR120-KO マウスの舌咽神経 S-, M-type における脂肪酸応答は GPR40, CD36 阻害剤によって抑制されたが、鼓索神経では抑制されなかった。また約 1 分間の刺激時間の前半では GPR40、後半では CD36 の抑制剤がオレイン酸応答を有意に抑制した。これらの結果から、まず G タンパク共役型受容体、続いてトランスポーターの機能により味細胞の興奮性が持続し、脳に持続的な嗜好性情報を送っている可能性が示唆された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Regional and temporal differences in functions of fatty acid receptors in the tongue

○Yasumatsu K^{1,2}, Ninomiya Y^{2,3}

¹Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll, ²R&D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ, ³Monell Cent

Previous studies demonstrated that GPR40, GPR120 and CD36 are involved in fatty acid sensing in rodents' taste systems. We recently reported that ~18% of fibers of the mouse chorda tympani (CT) nerve responded best to oleic acids (F-type) and subsets of sucrose- (S-type) or glutamate-best (M-type) fibers also responded to fatty acids. GPR120 was revealed to contribute in these responses. In the glossopharyngeal (GL) nerves, the percentage of F-type fiber was ~9% and ~2% in wild type (WT) and GPR120-KO mice respectively. More than 60% of S-type or M-type fibers showed responses to fatty acids in both mice strain. These results suggest that CT play a major role in distinguishing fatty acid taste from other primary tastes, contributing to intake unsaturated fatty acids. In GL of GPR120-KO mice, fatty-acid-responding S- and M-type fibers were significantly suppressed by inhibitors of GPR40 or CD36, although those of the CT were not suppressed. Significant suppression was observed in first half and second half of response to oleic acid by application of antagonists of GPR40 and CD36 respectively during 1-minute stimulation, suggesting differential contribution of these receptors to keep taste cell excitability for palatable taste information of fatty acid via GL nerve.

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

MS2-4 甘味およびそれに伴う心地よさを選択的に伝達する神経細胞の発見

○中島健一郎¹, 傅 欧¹, 岩井 優², 近藤 邦生¹, 三坂 巧², 箕越 靖彦¹

¹生理学研 生殖・内分泌系発達機構, ²東大 院農

摂食は、ヒトを含め動物にとって最も重要な本能の1つである。このうち、味覚は、栄養豊富な好ましい食物を積極的に摂取し、有害な成分を忌避するなど、食物の価値の判断基準として機能する。

味覚の情報は、舌を起点に脳内の複数の中継点をリレーする事で認識されるが、近年、味覚受容体が同定され、舌における味覚受容のメカニズムが解明されつつある。一方、脳内の味覚伝達機構については未だ不明な点が多い。本研究ではマウスをモデルに、味覚情報伝達の重要な中継点である脳幹において、味覚伝達神経の探索を行った。電気生理学および組織学の過去の解析結果を照らし合わせて精査したところ、脳幹の中でも橋結合腕傍核（PBN）に味に応答する神経細胞が偏在しており、転写因子の1つ SatB2 を発現している可能性が示唆された。そこで、SatB2 が味覚伝達神経の目印であると仮定し、分子生物学的手法によって、この神経細胞を除去したところ、他の味に対する反応は正常だったのに対し、甘味をほとんど感じられなくなることが明らかになった。一方、装着型微小顕微鏡を用いて、味溶液摂取中の脳活動を計測したところ、この神経細胞は甘味に選択的に応答する事が明らかになった。また、オプトジェネティクスを用いて、この神経の活動を人工的に活性化すると、無味の溶液であってもまるで、甘味溶液のように好んで摂取した。さらに、たとえ溶液の摂取がない場合でも、マウスはこの神経が人工的に活性化された状態を好むことから、この神経細胞は甘味を味わった際に生じる心地よさ（快情動）を引き起こす上で重要な役割を担う事が判明した。

以上の結果から、マウス脳幹において SatB2 発現神経は、甘味およびそれに伴う心地よさを伝えている事が示された。マウスの橋結合腕傍核において、味覚応答神経の存在が報告されてから40年以上経つが、哺乳類の脳内において味覚伝達神経の特定に成功したのは、本研究が初めてである。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Genetic identification of sweet taste neurons in the mouse brainstem

○Nakajima K¹, Fu O¹, Iwai Y², Kondoh K¹, Misaka T², Minokoshi Y¹

¹Div Endo Metab, Nat Inst Phys Sci, ²Grad Sch Univ of Tokyo

The gustatory system plays an important role in sensing appetitive and aversive tastes for evaluating food quality. In mice, taste signals are relayed by multiple brain regions, including the parabrachial nucleus (PBN) of the pons, before reaching the gustatory cortex via the gustatory thalamus. While the molecular mechanism of peripheral taste system has been extensively investigated, the genetic property of gustatory neurons in the CNS has been so far less studied. The PBN, which is composed of multiple subnuclei, functions as a hub to receive and transmit various types of information, such as interoceptive (hunger and satiety) and exteroceptive (gustatory, pain, itch, and thermal sensation) senses. While the existence of taste-responsive PBN neurons was first reported more than 40 years ago, the molecular identity of gustatory neurons in the PBN has remained unknown due to lack of molecular markers.

Here, we show that SatB2-expressing neurons in the PBN play a pivotal role in sweet taste transduction. With cell ablation, in vivo calcium imaging, and optogenetics, we reveal that SatB2PBN neurons encode positive valance and selectively transmit sweet taste signals to the gustatory thalamus.

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

MS3-1 低ホスファターゼ症の遺伝子治療

○高橋 有希

東歯大 薬理

低ホスファターゼ症 (HPP) は、組織非特異的アルカリホスファターゼ遺伝子 (TNSALP) の変異により生じる先天性疾患で、硬組織の石灰化不全、病的骨折、呼吸困難、痙攣発作、乳歯の早期脱落を主徴とする。現在、アスホターゼアルファを使用した酵素補充療法が行われているが、酵素の半減期が短いため、長期間の反復投与の必要性がある。さらに、エンドポイントが定められていないため、成長に伴う投与量の増量は免れない。そこで、新たな根本的治療法の開発が急務である。我々は以前、8型アデノ随伴ウイルス (AAV8) ベクターによる遺伝子治療により、HPP モデルマウスに対し、単回投与で延命効果が得られることを報告した。しかし、延命効果が得られた治療マウスの大腿骨を解析した結果、伸長不全や石灰化不全、さらに軟骨細胞層の異常増殖などの治癒不全が確認された。したがって、これらの治癒不全を改善できる至適 AAV ベクター量を検討することを次の課題とした。その結果、高用量で遺伝子治療を行った治療マウスは、正常な体重増加、行動量の正常化、大腿骨の形態不整や伸長不全の改善が確認された。さらにマイクロ CT 解析により、皮質骨の厚径、骨梁の正常配列や骨密度の改善が認められた。組織学的解析では、大腿骨における ALP 補充量の向上とそれに伴う成長板軟骨細胞層の配列の正常化が確認された。これらの結果より、硬組織に十分な量の TNSALP を補充することにより、出生後の治療でも硬組織の形態不整や石灰化不全の改善が可能であることが示唆された。このことから、適正量 ALP を補充することにより、出生後でも重症乳児 HPP 患者の QOL 向上が可能であると考えられた。

本シンポジウムでは、これらの低ホスファターゼ症における遺伝子治療実験の結果を紹介するとともに、最新の情報に基づいて、先天性疾患における QOL の向上に必要な骨の役割に関して議論したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Gene therapy of hypophosphatasia

○Takahashi A

Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll

Hypophosphatasia (HPP) is a systemic skeletal disease caused by mutations in the gene encoding tissue-nonspecific alkaline phosphatase (TNSALP). We recently reported that survival of HPP mice can be prolonged by a single injection of adeno-associated virus (AAV) vector mediating the expression of TNALP. Nevertheless, treated mice still presented abnormal structure of hard tissue. Therefore, we assessed the efficacy of ALP replacement closer to optimal levels on the recovery of the bone structure. The result showed that the higher-dose treated mice were normal femur lengths and body weight. There was no significant difference in the femur bone mineral density between higher-dose treated mice and WT mice. Histological analysis of the femurs on the higher-dose treated mice showed increase of ALP replacement and reduced of abnormal chondrocytes.

These results suggest that AAV-mediated high-dose ALP replacement strategy is a promising option for the improvement of the QOL of HPP patients. In this symposium, we would like to discuss the roles of bone that are essential for improving QOL in congenital diseases and introduce our recent findings and recent information.

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

MS3-2 低ホスファターゼ症の歯科症状

○新谷 誠康

東歯大 小児歯

低ホスファターゼ症 (HPP) は主に常染色体性劣性 (潜性) 遺伝する遺伝性疾患であり, 骨と歯の石灰化障害を起こす骨系統疾患である. この疾患は組織非特異的アルカリホスファターゼ (tissue-nonspecific alkaline phosphatase: TNSALP) をコードする *ALPL* 遺伝子 (1p36.12) の突然変異により, 同酵素の機能が欠損するために起こる. HPP は稀な疾患であり, 重症症例の発症率は新生児 10 万人に 1 人であるが, 軽症症例の発症率はもっと高いようである. 臨床的には診断が下った年齢と症状の重症度に基づいて 6 つの型, すなわち致死性の高い周産期重症型, 骨症状のみの周産期良性型, 生後 6 か月までに発症する乳児型, 6 か月から 18 歳未満に発症する小児型, 成人型, 歯だけに症状が現れる歯限局型に分類される. 歯限局型以外の型の骨と他の随伴症状における重症度は一般的に発症した年齢に関係している. 4 歳以前に乳歯に起こる早期脱落が口腔領域に頻発する症状である. 歯の早期脱落は通常単根の乳切歯部に起こるが, なかでも下顎乳中切歯に最も多く, 上顎乳中切歯がこれに続く. もちろん歯の脱落は乳臼歯にも, 重篤な場合には永久歯にも及ぶことがある. 乳歯の早期脱落は歯根吸収を伴うことなく, 重篤な歯槽骨吸収を伴って起こる. 石灰化を制御できないことが歯を歯槽骨に植立するのに不可欠な役割を果たす歯根表面のセメント質の形成不全を引き起こす. そのため, セメント質無形成とセメント質石灰化不全の混在したセメント質形成不全が起こり, 歯周靭帯が十分に機能せず, 歯周炎の結果として乳歯が早期脱落する. その他の口腔内症状としては, エナメル質形成不全や象牙質の形成量の低下などが認められることがある.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

Dental symptoms of hypophosphatasia

○Shintani S

Dept Ped Dent, Tokyo Dent Coll

Hypophosphatasia (HPP) is a genetic disorder inherited mostly as an autosomal recessive trait and characterized by defective bone and tooth mineralization. It is related to functional deficiency of tissue non-specific alkaline phosphatase (TNSALP) activity caused by mutations of the *ALPL* gene (1p36.12). HPP is a rare disorder. Severe forms of the disorder affect one in 100,000 newborns while mild forms might be more common. Six different types of HPP, perinatal lethal, perinatal benign, infantile, childhood, adult and odonto forms, has been clinically classified. The classification is based on the age at diagnosis, and the severity of symptoms. The severity of bone and other associated symptoms are generally related to the onset age except for the odonto forms. Early loss of primary teeth, before age 4, is the most common oral manifestation. Early exfoliated teeth are generally found in the area of the primary incisors, especially the mandibular primary central incisors followed by maxillary primary central incisors. The primary teeth without root resorption are exfoliated and severe alveolar bone loss is observed because the dysregulation of mineralization causes the malformation of the cementum covering the tooth root, which is essential for tooth structure in order to attach to the alveolar bone.

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

MS3-3 遺伝性疾患における遺伝子治療の現状と今後の展望

○武田 伸一

国立精神・神経医療研究センター

遺伝子治療は、多くの遺伝性疾患に対する治療の切り札として開発が進んでおり、その一部は国内外で承認を受け、すでに臨床での利用が進んでいる。とくに、神経筋難病については原因遺伝子そのものをターゲットとした核酸医薬の開発が盛んで、脊髄性筋萎縮症に対して我が国でも承認されたアンチセンスオリゴ核酸（AON）治療は、これまで治療法がなかった神経難病の予後を大きく変える画期的治療として期待されている。また、Duchenne 型筋ジストロフィー（DMD）に対してもモルフォリノなどの核酸医薬により遺伝子変異を克服する治療法が米国ですでに承認され、国内でも臨床試験が進んでいる。

我々は、DMD に対してジストロフィン遺伝子のイントロン6のスプライシング変異によりエクソン7が欠失し、ジストロフィンの発現を欠く筋ジストロフィー犬に対し AON を投与した結果、全身骨格筋でジストロフィンが発現し、骨格筋障害の進行が抑制されることを明らかにした（Ann Neurol, 2009）。次に、企業と共同開発契約を結んだ上で、ジストロフィン遺伝子のエクソン53 スキップを誘導する治療薬を創製し、医師主導治験に向けた準備を進めた。2013年6月に早期探索的臨床試験として開始し、大きな有害事象なく投与を終了することができた（Sci Transl Med, 2018）。本薬は同試験の結果を受けて、2015年10月厚生労働省により「先駆け審査指定制度の対象品目」として指定され、2016年10月には米国FDAからもFast track並びにOrphan drugの認定を受けた。日本と米国において企業による次相試験が行われたが、ジストロフィン発現の上でも臨床評価指標の上でも有望な結果が得られていることから、2019年9月にも承認申請を行なう予定である。

【利益相反】 著者は利益相反状態にあります（利益相反開示説明書提出済）

Progress and perspectives of gene therapy of hereditary diseases

○Takeda S

Natl Cent of Neurol and Psychiat

Antisense Oligonucleotides (AO) therapy is developed in the area of hereditary neuromuscular diseases including Duchenne muscular dystrophy (DMD). We have reported that systemic delivery of AOs targeting exon 6 and 8 of the canine *DMD* gene to CXMD₁, a dystrophin-deficient canine animal model, efficiently restored functional dystrophin proteins and improved phenotypes of affected dogs (Ann Neurol. 2009;65:667-76). We, then, optimized AO sequences, which allow exon 53 skipping of the human *DMD* gene, together with Nippon Shinyaku Co. Ltd. We carried an early phase clinical trial of exon 53 skipping among DMD patients. The trial has been successfully completed as an investigator-initiated trial in NCNP hospital without serious adverse events. Following highly effective exon skipping detected by RT-PCR and dystrophin expression examined by immunofluorescence staining and Western blotting (Sci Transl Med. 2018;10(437)), the drug has been chosen as fast track for approval process both in Japan and in US, then phase I/II trial in Japan and phase II trial in US were carried by either Nippon Shinyaku Co. Ltd. or NS Pharma, Inc. Based on favorable results in these clinical trials, the company would ask the approval of this drug as early as in September 2019.

Conflict of Interest: The author declares a conflict of interest with Nippon Shinyaku Co. Ltd.

JKS1-1 Identification and functional evaluation of novel signaling molecules involved in tooth development

○Jae-Young Kim

Dept Biochem, Sch Dent IHBR, Kyungpook Natl Univ Korea

Intensive studies on tooth development revealed that it is regulated by multiple growth and transcription factors. However, although the abundant information was provided by a range of studies in tooth development, we still do not understand the tooth specific signaling molecules and detailed molecular mechanisms underlying tooth morphogenesis. To elucidate the tooth specific signaling molecules and regulations, we examined the stage and tissue specific expression patterns of signaling molecules in tooth forming or oral tissues among species including rodent, avian and leech. High throughput genetic screening methods including NGS and microarray were employed with laser micro-dissection technique for gathering the genetic information of tooth specific developing tissues. After carefully applying the algorithms into genetic information for selecting the candidate genes, which were not examined in tooth development so far. Based on the criteria, we selected novel genes and examined the precise expression patterns in developing tooth germs. In addition, we employed a range of in vivo and in vitro examination methods to understand the detailed developmental functions of novel genes in tooth development. These identified novel signaling molecules and regulations would suggest that tooth specific conserved signalings among species are fundamentally involved in structural formation of dental hard tissue through regulating the signaling pathways and cellular events. In addition, these results would suggest that understanding the conserved signaling regulations among analogous organs is important for revealing fundamental mechanisms of organogenesis and regeneration.

Conflict of Interest: The author have no COI.

JKS1-2 遺伝子改変メダカを用いた、歯の生え変わり制御機構の解明

○茶谷 昌宏^{1,2}, 畔津 佑季^{1,2}, 百々 悠介^{2,3}, 坂井 信裕^{1,2}, 工藤 明^{1,2}, 高見 正道^{1,2}
¹昭大 歯 歯科薬理 ²昭大 薬理科学研究セ ³昭大 医 整形外科

ヒトの歯は乳歯から永久歯に1度だけ生え換わるが、その詳細なメカニズムは未解明である。骨研究のモデル動物としてよく用いられるマウスの歯は生え変わらないが、硬骨魚類であるメダカは生涯を通じて何度も生え換わる多生歯性である。メダカの喉には咽頭歯と呼ばれる歯が1000本近く存在し、複数の歯列を作り常に生え変わりながら移動すると考えられるが、その制御機構はよくわかっていない。我々は咽頭歯を支える咽頭歯骨の骨吸収を調べるため破骨細胞が蛍光タンパク質で標識された *TRAP* promoter EGFP トランスジェニックメダカを作製した。破骨細胞の機能を調べるため *c-fms* 遺伝子欠損メダカを作製すると破骨細胞の数が減少し咽頭歯骨が増大し歯列に乱れが生じた。さらに現在解析している *rankl* 遺伝子欠損メダカ、*opg* 遺伝子欠損メダカにおいても破骨細胞に異常が見られており、咽頭歯骨の破骨細胞が RANKL/OPG 制御を受けていることが示唆されている。また最近ではグルココルチコイド製剤であるプレドニゾンやデキサメタゾンをメダカに投与して骨代謝への影響を調べており、咽頭歯骨周囲に局在する破骨細胞の蛍光シグナルがグルココルチコイド製剤投与によって顕著に低下し、破骨細胞の機能不全によって骨吸収されないため咽頭歯骨が増加した。

以上より、咽頭歯の生え変わりには、破骨細胞が重要な役割を担っており、その制御には RANKL/OPG または Glucocorticoid が関与すると考えられる。今後の解析によって歯の生え変わりを制御する骨吸収調節機構の解明が期待される。

【利益相反】 利益相反はありません。

Analysis of tooth replacement mechanism using genetically modified medaka fish

○Chatani M^{1,2}, Azetsu Y^{1,2}, Dodo Y^{2,3}, Sakai N^{1,2}, Kudo A^{1,2}, Takami M^{1,2}

¹Dept Pharmacol, Sch Dent, Showa Univ, ²Pharmacol Res Cent, Showa Univ, ³Dept Orthopedic Sch Med, Showa Univ

It is well known that human teeth undergo replacement once, from primary to permanent, though the detailed mechanism remains largely unknown. The bony fish medaka is a polyphyodont with teeth that are replaced several times throughout life, whereas mouse teeth do not undergo replacement. Nearly 1000 pharyngeal teeth can be found in the medaka throat, though the mechanism related to regulation of their replacement is not well understood. To examine the metabolism of medaka pharyngeal teeth and bones, we generated a *TRAP* promoter EGFP transgenic medaka in which osteoclasts were labeled with fluorescent protein. Our results showed that *c-fms*-deficient medaka had a reduced number of osteoclasts and increased number of pharyngeal bones. Moreover, *rankl*- and *opg*-deficient medaka had an osteoclastogenesis disorder, suggesting that resorption of pharyngeal bone is regulated by RANKL/OPG. In the present study, administration of glucocorticoids in medaka decreased fluorescence signaling from osteoclasts localized around pharyngeal teeth and increased that in pharyngeal bones.

These results indicate that osteoclasts play an important role in pharyngeal tooth growth. Furthermore, it is considered that RANKL/OPG and/or glucocorticoid have involvement in control of tooth replacement. Additional analysis findings are expected to help elucidate the bone resorption regulatory mechanism that controls tooth growth.

Conflict of Interest: The authors have no conflicts of interest to declare.

JKS1-3 条鰭類のカラーエナメル解析からエナメル質の起源を探る

○中富 満城¹, 三上 正人², 笹川 一郎³, 石山巳喜夫⁴, 川崎 和彦⁵

¹九歯大 解剖, ²日歯大新潟 微生物, ³日歯大新潟 先端研セ, ⁴日歯大新潟 解剖 2, ⁵ペンシルバニア州立大 人類

脊椎動物の進化の過程で、約4億5千万年前に硬骨魚類が条鰭類と肉鰭類の系統に分岐した。肉鰭類にはシーラカンスや肺魚が含まれ、後にこの群に両生類が出現してヒトを含む陸上動物に進化した。条鰭類と肉鰭類には骨、象牙質、エナメロイド、エナメル質等の多様な硬組織が存在し、これらの硬組織を構成する細胞外基質タンパクはSCPP (secretory calcium-binding phosphoprotein) 遺伝子群にコードされている。SCPP 遺伝子群はSPARCL1 (secreted protein, acidic, cysteine-rich like 1) を祖先遺伝子として遺伝子重複の繰り返しにより派生したと考えられている。ヒトを含む肉鰭類系統の歯のエナメル基質の形成に関与する主要なSCPP 遺伝子は *amelogenin* (*amel*), *ameloblastin* (*ambn*), *enamelin* (*enam*) であり、この3遺伝子はシーラカンス、肺魚、四肢動物に共通して保存されている。一方条鰭類の大部分を占める真骨魚類の歯の表層はエナメル質ではなくエナメロイドで覆われている。エナメロイドの形成には歯胚上皮細胞と象牙芽細胞の双方が関与し、エナメル質と異なりコラーゲンを含有する。しかしながら条鰭類の中でも進化系統的に古い特徴を残すガーパイクの歯にはキャップエナメロイド (アクロデイン) と象牙質に加えてカラーエナメルが存在する事が知られている。カラーエナメルは肉鰭類のエナメル質と同様に歯胚上皮細胞のみから形成され、コラーゲンを含有しない。従ってヒトのエナメル質の起源を探る上で条鰭類のカラーエナメルの本態を解明する事が重要であると考えられる。そこで我々はまず抗*amel*抗体を用いてガーパイクの歯胚を免疫組織化学染色により解析した所、歯胚上皮細胞に陽性反応が見られた。ところが whole-genome 解析の結果、ガーパイクには *ambn* と *enam* は存在するが *amel* を完全に欠損する事が判明した。本発表ではこの矛盾を解決する新知見を提示し、エナメル質の起源について議論したいと考えている。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Exploration of the origin of enamel through analyzing collar enamel of actinopterygians

○Nakatomi M¹, Mikami M², Sasagawa I³, Ishiyama M⁴, Kawasaki K⁵

¹Div Anat, Kyushu Dent Univ, ²Dept Microbiol, Nippon Dent Univ at Niigata, ³Adv Res Cent, Nippon Dent Univ at Niigata, ⁴Dept Histol, Nippon Dent Univ at Niigata, ⁵Dept Anthropol, Penn State Univ

Human teeth are covered with enamel, the hardest tissue in the body. During tooth development, three SCPP (secretory calcium-binding phosphoprotein) genes, *AMELOGENIN*, *AMELOBLASTIN*, and *ENAMELIN* play a pivotal role for mineralization process of enamel formation. Since most analyzed sarcopterygians have a set of these three genes and true enamel in their teeth, the origin of true enamel could be traced back to at least the stem group of sarcopterygians. However, it remains unclear whether true enamel originated before or after the divergence of actinopterygians and sarcopterygians. To address this issue, we focused on collar enamel of the garpike, which is regarded as one of primitive actinopterygians. Immunohistochemical analysis using anti-*amelogenin* antibody revealed that developing collar enamel of the garpike was immunopositive for *amelogenin*. Nevertheless, no *amelogenin* gene has been found in the garpike through whole-genome sequence, though *ameloblastin* and *enamelin* have been identified. In this symposium, we would like to present our recent data which could solve this contradiction and discuss the origin of true enamel.

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

GS1-1 リン代謝ネットワーク調節機構と疾患

○瀬川 博子, 小池 萌, 谷藤 和也, 佐々木すみれ, 金子 一郎, 宮本 賢一
徳大 医 分子栄養

無機リン酸 (Pi) は, 細胞内シグナル伝達, エネルギー交換, 細胞膜の産生および機能, ならびに骨および歯におけるヒドロキシアパタイトの組成を含む, 生理学的機能にとって必須である. しかしながらこの恒常性の破綻は生命の危険をも招く. 特に慢性腎臓病・透析患者における高リン血症は, 血管石灰化を誘発する因子であり, 患者の予後を左右することから高リン血症に対する治療が必須である. 一方, 低リン血症はくる病/骨軟化症につながる. 血中 Pi 濃度は, 食事からの Pi の吸収, 貯蔵, および骨中の Pi の吸収と, 尿を通しての Pi の排出との間のバランスによって決定される. 食事の Pi, 副甲状腺ホルモン (PTH), 1,25-ジヒドロキシビタミン D 3, および線維芽細胞増殖因子 (FGF) 23 は, 腸, 骨, および腎臓における Pi 恒常性の主要な調節因子である. これらの調節因子は, 腸や腎臓のリントランスポーターである Solute Carrier (SLC) 34 または SLC20 ファミリーの発現を増減させることで, 血中リン濃度調節を行っている. 最近我々は, 唾液—腸管—腎臓を結ぶ新しいリン調節経路の存在を報告した.

本講演では, リン代謝における多臓器連関について生体内リン代謝調節機構に関連する臓器として新たに加わった唾液腺に焦点を当て最近の知見を概説する.

【利益相反】 なし

Phosphate homeostasis network and disease

○Segawa H, Koike M, Tanifuji K, Sasaki S, Kaneko I, Miyamoto K
Dept Mol Nutr, Inst Biomed Sci, Tokushima Univ Grad Sch

Inorganic phosphate (Pi) is an essential physiological compound for several biological functions, including intracellular signaling, energy exchange, cell membrane production and function, and the composition of hydroxyapatite in bone and teeth. However, this homeostatic failure also brings with it the danger of life. Hyperphosphatemia, especially in chronic kidney disease (CKD) and dialysis patients, is a factor that induces vascular calcification, and treatment of hyperphosphatemia is essential because it affects the prognosis of patients. On the other hand, hypophosphatemia leads to rickets/osteomalacia. The serum Pi concentration is determined by the balance between the intestinal absorption of Pi from the diet, storage, and of Pi in the bone, and the excretion of Pi through the urine. Dietary Pi, parathyroid hormone (PTH), 1,25-dihydroxyvitamin D3, and fibroblast growth factor (FGF) 23 are major regulators of Pi homeostasis in the intestine, bone, and kidney. These regulators regulate blood Pi levels by regulating the expression of transporter molecules in the intestine and kidney. Recently we revealed the new Pi regulatory pathway that links the saliva-intestine-kidney.

In this symposium, we review recent findings on multiple organ linkages in Pi metabolism, including the salivary gland newly added as an organ related to the Pi control.

Conflict of Interest: No

GS1-2 歯周病原菌が動脈硬化に及ぼす影響と予防戦略

○落合 智子

日大松戸歯 微生物免疫

近年の疫学的研究から歯周病は冠動脈疾患のリスクを増加することが示唆されている。例えば歯周病の患者は、将来起こりうる心疾患のリスクを、健康な人と比べて約 19% 増加させ、更に重度の歯周炎は血管壁の内膜中膜複合体肥厚とも関連している。

歯周病原菌は血小板凝集、血管壁での LDL の増加やリポ蛋白の沈着、心臓や頸動脈内皮への侵入および高レベルの炎症性因子の循環や組織での発現を介して冠動脈疾患に関わっている可能性がある。*Porphyromonas gingivalis* (*P. g.*) などの歯周病原細菌が冠動脈のアテローム性プラーク中から検出される事実は血管内皮細胞に侵入し、慢性の血管炎症を誘導する可能性を示唆している。慢性歯周炎はまた、血中での急性期蛋白や炎症性サイトカイン、matrix metalloprotease ファミリーの上昇により証明される全身性炎症状態を介して間接的に内皮の活性化や機能不全を誘導していると思われる。更に *P. g.* の外膜小胞やジンジパイン等の細菌産物の血管への放出が内皮細胞における炎症反応を誘導している。細菌由来の熱ショックタンパク質 (HSP) GroEL による免疫活性化もまた宿主の HSP60 と GroEL 間の構造的類似又は分子擬態 (molecular mimicry) を介して自己免疫応答に続く動脈硬化を誘導している。本発表では歯周病原菌で促進される動脈硬化プラーク形成における炎症誘発機序や酸化変性機序、インフラマソームを介した慢性炎症促進機序に焦点を当て解説したい。更に特定の病原体や共通抗原に対する粘膜ワクチン投与や抗酸化・抗炎症効果を持つカテキン摂取、乳酸菌の胃内投与が動脈硬化を予防できる可能性について述べる。【利益相反】本演題に関して、筆頭著者に開示すべき COI はありません。

Effects of periodontal pathogens on arteriosclerosis and their preventive strategies

○Kurita-Ochiai T

Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

Recent epidemiological studies suggest that periodontal disease increases the risk of coronary artery disease. For example, patients with periodontal disease increase the risk of heart disease in the future by about 19% compared to healthy people, and severe periodontitis is also associated with thickening of the intima-media complex in the vessel wall. Periodontal pathogens are involved in coronary artery disease through platelet aggregation, increased LDL in blood vessel walls, deposition of lipoproteins, invasion of the heart and carotid endothelium, and high levels of circulating inflammatory factors and their tissue expression. The fact that periodontopathogenic bacteria such as *Porphyromonas gingivalis* (*P. g.*) are detected in atherosclerotic plaques suggests that they may invade vascular endothelial cells and induce chronic vascular inflammation. It seems that periodontitis also indirectly induces endothelial activation and dysfunction through systemic inflammatory conditions as evidenced by elevation of acute phase proteins and inflammatory cytokines, matrix metalloprotease family in the blood. Furthermore, the release of bacterial products such as *P. g.*-derived outer membrane vesicles and gingipain into blood vessels induces an inflammatory response in endothelial cells. Immune activation by bacterial heat shock proteins (HSPs) GroEL also induces autoimmune responses via structural similarity or molecular mimicry between host HSP60 and GroEL. In this presentation, I would like to focus on the mechanism of inflammation induction and oxidative generation in periodontal pathogen-promoted atherosclerotic plaque formation and the mechanism of chronic inflammation through inflammasome. Furthermore, we will discuss the possibility of preventing arteriosclerosis by mucosal vaccine administration against specific pathogens and common antigens, intake of catechins with anti-oxidative and anti-inflammatory effects, and intragastric administration of lactic acid bacteria.

Conflict of Interest: There is no COI to be disclosed to the first author regarding this subject.

GS1-3 唾液腺産生生理活性物質の脳への影響と行動変容

○猿田 樹理

神歯大 院歯 口腔科学

唾液腺は唾液を産生し、口腔の機能維持という役割以外に臓器としての意義がほとんど知られていないのが、現状である。我々は brain-derived neurotrophic factor (BDNF) がストレスで変動する点に注目し、拘束ストレスを負荷したラットの顎下腺において BDNF の発現を検討した。その結果、急性ストレスによってラット顎下腺に BDNF が増加することが明らかになった。さらに BDNF レセプターである TrkB は口腔粘膜および唾液腺にストレス負荷後にも発現していないことから、唾液腺 BDNF は遠隔臓器に影響を与えている可能性が示唆された。そこで、唾液腺産生 BDNF が全身にどのような影響を及ぼすのか検討するために、BDNF 遺伝子を唾液腺に特異的に発現させたトランスジェニック (Tg) マウスを作製した。我々はこの Tg マウスを用いて、唾液腺産生 BDNF が中枢に移行しているかを確認し、それによる行動解析および分子生物学的変化の検討を行った。その結果より代謝レベルでは、Tg マウスの海馬において GABA の産生が亢進していた。また行動解析では、open field test における center 侵入回数・滞在時間が、高架式十字迷路においては open arm 侵入回数が Tg マウスで有意に高く、行動変容が認められた。以上の結果より唾液腺産生 BDNF が全身に様々な影響を与える可能性が示唆された。

本講演では、唾液腺が与える全身への影響について BDNF に注目した現在までの研究内容を紹介すると同時に、将来の臨床応用の可能性として、共同研究において精神疾患の病態と唾液 BDNF との関連について検討しているため、その一部を紹介する。

【利益相反】 演題発表内に関連し、発表者が開示すべき利益相反はございません。

Effects of salivary gland produced physiologically active substances on brain and behavior modification

○Saruta J

Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

Salivary glands produce saliva, and their role as maintaining the function of the oral cavity is hardly known as an organ. We noted that BDNF fluctuates with stress, and examined BDNF expression in the submandibular gland of rats exposed to immobilization stress. As a result, it was shown that acute stress increased BDNF mRNA and protein in rat submandibular gland. Furthermore, it was suggested that the salivary gland BDNF may affect distant organs, since BDNF receptor TrkB is not expressed even after stress the oral mucosa and salivary gland. Therefore, in order to investigate how salivary gland-produced BDNF affects the whole body, we created transgenic (Tg) mice in which the BDNF gene was specifically expressed in salivary glands. We examined what kind of influence the salivary gland produced BDNF has on the whole body.

In this symposium, I will introduce the research contents up to the present, focusing on BDNF, regarding the systemic effects of salivary glands. Furthermore, as a possibility of future clinical application, we are examining the relation between the pathological condition of psychiatric disorders and saliva BDNF, and introduce some of them.

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

GS1-4 腸管免疫の賦活化が唾液中 IgA に与える影響 腸-唾液腺相関

○山本 裕子

神歯大 短大 歯科衛生

IgA は粘膜免疫の主役であり、「呼吸器と消化管の入り口」として重要な役割を果たす口腔の唾液中には、唾液腺で産生された多量の Immunoglobulin A (IgA) が分泌され、上気道感染症の感染防止に大きく関与している可能性がある。我々は大腸で IgA レベルを増加させる難消化性糖類に注目し、難消化性糖類摂取が唾液中 IgA レベルに与える影響を検討した。ラットに難消化性糖類のフラクトオリゴ糖 (FOS)、ポリデキストロース+ラクチトールを 3 週間摂取させたところ、盲腸内容物中 IgA 濃度だけでなく、唾液腺組織中 IgA 濃度および唾液中 IgA 分泌速度も増加し、唾液腺の polymeric immunoglobulin receptor の発現が増加した。次に難消化性糖類摂取を開始してからどれ位の期間で唾液中 IgA 分泌速度が上昇するかを明らかにするため、ラットに FOS を 1 週、4 週、8 週間摂取させた。唾液中 IgA 分泌速度には FOS 摂取と摂取期間の両方が影響していること、FOS 摂取 1 週間後から唾液中 IgA 分泌速度が増加することが明らかとなった。さらにベイジアンネットワークによる解析から、唾液中 IgA 分泌速度上昇の原因は盲腸内容物中 IgA 濃度ではなく、盲腸内容物中短鎖脂肪酸濃度である可能性が示された。また短鎖脂肪酸レセプターノックアウトマウスでは唾液中 IgA 分泌速度が低下していること、唾液中 IgA 分泌速度には盲腸から吸収された短鎖脂肪酸が関与している可能性があることも、その後の実験から示唆された。

我々はこれまでの唾液中 IgA 分泌速度と腸管に関する研究の結果から、「腸-唾液腺相関」という新しい知見を見出した。本講演では今までの唾液中 IgA に関する我々の研究を紹介するとともに、腸管からのシグナルによる唾液中 IgA レベルの変化が上気道感染症を予防する可能性について述べさせていただく。そして歯科から発信する、唾液中 IgA レベルを増加させ上気道感染症を予防するための食栄養指導について提案する。

【利益相反】 演題発表内に関連し、発表者が開示すべき利益相反はございません。

Effect of activation of intestinal immunity on salivary IgA, “intestinal-salivary gland correlation”

○Yamamoto Y

Dept Dent Hyg, Kanagawa Dent Univ Jr Coll

Decreased salivary immunoglobulin A (IgA) is associated with a higher risk of upper respiratory tract infections (URTI). Here, we examined the effect of indigestible carbohydrates on salivary IgA levels. Rats were fed with a control fiber-free diet or a diet with 50 g/kg fructooligosaccharides (FOS) for 21 days. Salivary IgA flow rate, IgA concentrations in the cecal digesta and submandibular gland tissue, and PIGR (polymeric immunoglobulin receptor) mRNA expression in the submandibular gland were significantly higher in the FOS fed group as compared to those in the control group. Further, we investigated the effects of FOS intake and time after feeding on salivary IgA flow rate. Rats were fed with a control fiber-free diet or a diet with 50 g/kg FOS for 0, 1, 4, and 8 weeks. Salivary IgA secretion rate increased following 1 week of FOS intake. Bayesian network analysis revealed that ingestion of FOS increased salivary IgA secretion through increased levels of short-chain fatty acids (SCFA) in the cecal digesta. Furthermore, SCFA receptor knockout mice showed reduced salivary IgA flow rates. Based on these results, we propose an “Intestinal-Salivary gland correlation” and suggest dietary guidelines to increase salivary IgA levels for the prevention of URTI.

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

AD1-1 脂肪細胞を細胞死へと導く骨基質タンパク Osteocalcin

○大谷 崇仁¹, 松田 美穂², 溝上 顕子³, 北河 憲雄¹, 自見英治郎^{2,3}, 稲井哲一朗¹,
平田 雅人⁴

¹福歯大 機能構造, ²九大 院歯 口腔細胞工学, ³九大 院歯 OBT 研究セ, ⁴福歯大 口腔歯

非コラーゲン性骨基質タンパクのオステオカルシン(OC), 特に非カルボキシル化 OC (GluOC) は糖・エネルギー代謝を活性化させるホルモンとしての作用があることが知られるようになった。我々は、脂肪細胞に GluOC を作用させると、脂肪細胞は小型化し、糖・脂質代謝活性化ホルモンであるアディポネクチンの発現が亢進することを見出し、そのシグナリング経路を解明した。その過程で、高濃度(>20 ng/ml)の GluOC では逆にアディポネクチンの発現が抑制されることに気付いた。本研究では、高濃度 GluOC による脂肪細胞へのネクロトーシス(プログラム化されたネクロトーシス)誘導である可能性について検討し、そのシグナリング経路の解明を目指した。初めに、高濃度 GluOC は G タンパク質共役型受容体である GPRC6A に結合し、cAMP の濃度上昇に引き続き、PKA および CREB を順次活性化し、FoxO1 の発現量を亢進させる。この FoxO1 によりデス因子である FasL の発現量が亢進すると共に、細胞膜局在も亢進する。続いて、細胞膜上に発現した FasL に対して隣接する脂肪細胞の Fas 受容体が結合する。これにより、隣接した脂肪細胞において Fas シグナルが活性化し、この隣接した脂肪細胞にのみネクロトーシスが誘導され、まさに“間引き”されるように全体の約 3 割に相当する脂肪細胞が細胞死し、残りの大多数の脂肪細胞はアディポネクチンの発現亢進に伴い、代謝的に有利な性質をもつようになる。今回、我々が明らかにした GluOC の濃度によるその効果の違いや GluOC シグナリング経路の一部は今後、肥満や糖尿病といった生活習慣病に対する新たな薬理学的アプローチとなる可能性を秘めている。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Programmed necrosis in adipocytes induced by osteocalcin

○Otani T¹, Matsuda M², Mizokami A³, Kitagawa N¹, Jimi E^{2,3}, Inai T¹, Hirata M⁴

¹Div Func Struct, Dept Morphol Biol, Fukuoka Dent Coll, ²Lab Mol Cell Biochem, Fac Dent Sci, Kyushu Univ, ³OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ, ⁴Sch Dent Med, Fukuoka Dent Coll

Osteocalcin, one of non-collagenous bone matrix proteins, has been known to regulate the metabolism of glucose and energy in the uncarboxylated form designated as GluOC. We examined the effects of GluOC on adipocytes, and then elucidated the signaling pathway on which GluOC increased the expression of adiponectin, an adipokine regulating the metabolism of glucose and lipids, and peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ), a master regulator of adipogenesis, via its putative receptor GPRC6A. Furthermore, we also found that GluOC at over 20 ng/ml inversely abolished the expression of adiponectin, and that the mechanism was that high-dose GluOC induced the programmed necrosis (necroptosis) in 3T3-L1 adipocytes via GPRC6A-cAMP-PKA-CREB-FoxO1 axis together with activation of p300, a histone acetyltransferase followed by the expression of FasL, a member of tumor necrosis factor superfamily. Although high-dose GluOC decreased the cell number of adipocytes, it was maximally about by 30%, probably because direct cell-cell contact was required for necroptosis via Fas/FasL interaction. Finally, we consider it is highly significant that we elucidated the difference of GluOC effects by its concentration and a part of the mechanism of GluOC signaling because GluOC has potential for a new pharmacological approach in the treatment of obesity and diabetes in the future.

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

AD1-2 歯の矯正学的移動に伴う骨細胞における RANKL 発現

○庄司あゆみ^{1,2}, 小野 岳人², 中島 友紀^{2,3,4}, 森山 啓司¹

¹医科歯科大 院医歯 顎顔面矯正, ²医科歯科大 院医歯 分子情報伝達, ³科学技術振興機構 さきがけ, ⁴日本医療研究開発機構 革新的先端研究開発支援事業

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動的な恒常性を保ちながら常に作り替えられている。この再構築現象は「骨リモデリング」と呼ばれ、骨組織の強度とミネラル代謝などの機能の維持に重要である。骨細胞は骨基質中に最も豊富に存在する細胞であり、骨細管中に細胞突起を伸展し、これらがギャップ結合によって連結することで細胞間ネットワークを形成している。このネットワーク構造は力学刺激の受容と細胞間の情報伝達に適しているとされており、骨細胞のメカノセンサーとしての役割が注目されている。矯正学的な歯の移動過程において、歯根周囲の歯槽骨では緻密に制御された骨リモデリングが起こる。矯正力負荷時の力学的刺激は歯周組織構成細胞を刺激し、歯槽骨の圧迫側での骨吸収を促進するが、それを担う破骨細胞の分化には RANKL 発現細胞による支持が必須であり、歯の移動の鍵となる。我々は、矯正力負荷に応答して RANKL を産生し、破骨細胞による骨吸収とそれに伴う歯の移動を制御する主要な細胞について検討してきた。歯周組織構成細胞を単離する新規分画系を確立し、野生型マウスの歯周組織における RANKL 発現を解析した結果、歯根膜細胞や骨芽細胞と比較し、骨細胞で RANKL の高い発現が見出された。生体レベルでの骨細胞の発現する RANKL の重要性を明らかにするため、骨細胞特異的 RANKL 欠損マウスを作出し歯の移動量を評価したところ、野生型マウスと比較して、移動量が有意に低下した。以上の結果から、矯正力負荷による骨吸収において、骨細胞が、歯槽骨のリモデリングを制御する RANKL の主要な発現細胞であることが明らかになった。本発表では、我々が進めてきた歯の矯正学的移動に伴う骨細胞における RANKL 発現に関する解析の現在と今後の研究展開について報告する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

RANKL expression in osteocytes during orthodontic tooth movement

○Shoji A^{1,2}, Ono T², Nakashima T^{2,3,4}, Moriyama K¹

¹Maxillofac Orthognathics, Grad Sch Med Dent Sci, Tokyo Med Dent Univ, ²Dept Cell Signal, Grad Sch Med Dent Sci, Tokyo Med Dent Univ, ³Precursory Research for Embryonic Science and Technology (PRESTO), Japan Science and Technology Agency (JST), ⁴Japan Agency for Medical Research and Development Core Research for Evolutional Science and Technology (AMED-CREST)

Bone is constantly being renewed by the balanced activities of osteoblastic bone formation and osteoclastic bone resorption. This metabolic process, “bone remodeling”, is crucial for maintaining bone homeostasis. Osteocytes are stellate-shaped cells enclosed within a bone lacuno-canalicular network and have been shown to function as mechanosensory cells. Orthodontic tooth movement (OTM) is achieved by the alveolar bone remodeling. It is well accepted that osteoclastic bone resorption which is regulated by RANKL is the key event to trigger the process.

We investigated the cellular source of RANKL during OTM. Based on our new isolation method to obtain periodontal tissue component cells, we found that osteocytes abundantly expressed RANKL. To demonstrate the significance of osteocytes as a major source of RANKL, we analyzed the genetically-modified mice in which RANKL is conditionally deleted in osteocytes. OTM and the number of TRAP positive cells were less in these mice than in the wild-type mice. Thus, osteocyte-derived RANKL plays a crucial role in osteoclastogenesis during orthodontic tooth movement. In this presentation, we will introduce our approaches and future prospect about molecular biological analyses of RANKL expression in osteocytes during OTM.

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

AD1-3 CD40-CD40L クロストークによる歯周組織の炎症制御機構と再生誘導機構

○藤原 千春, 金井 優, 榎本 梨沙, 松本 昌大, 北垣次郎太, 村上 伸也

阪大 院歯 歯周

CD40 分子は、主に B 細胞や樹状細胞、マクロファージなどの免疫細胞上に発現しており、これらの CD40 陽性免疫細胞は、CD40 ligand (CD40L) を発現する活性化 T 細胞と結合することで、CD40-CD40L 相互作用を介した細胞間クロストークを誘導し、様々な免疫応答を誘導する。我々はこれまでに、胸腺に存在する B 細胞が発現する CD40 分子が、これらの B 細胞の維持および自己反応性 T 細胞の除去に必須であることや、同分子の細胞特異性が胚中心の形成や抗体産生に重要であることを示してきた。

近年、CD40 分子は免疫細胞以外の細胞（血管内皮細胞や線維芽細胞など）においても発現していることが明らかとなり、生体内において組織特異的に多彩な機能を誘導することが示唆されている。我々は、歯周組織に存在する歯根膜細胞に CD40 が mRNA およびタンパクレベルで恒常的に発現していることを見出している。しかしながら、歯周組織の炎症や再生機構における同分子の機能に関しては未だ不明な点が多い。

そこで本シンポジウムでは、歯根膜細胞を介した CD40-CD40L 相互作用が歯周組織に及ぼす機能について我々の最新の研究を紹介するとともに、CD40 分子が歯周組織再生剤として臨床的に用いられている塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) の再生誘導機構にどのように関与するのかについても議論したい。

【利益相反】 本研究に関連して開示すべき利益相反あり

CD40-CD40L cross-talk in periodontal inflammation and regeneration

○Fujihara C, Kanai Y, Masumoto R, Matsumoto M, Kitagaki J, Murakami S

Dept Periodontol, Osaka Univ Grad Sch Dent

CD40 is mainly expressed on immune cells such as B cells, dendritic cells, and macrophages, and CD40⁺ immune cells bind to activated T cells expressing CD40 ligand (CD40L) and induce cross-talk of the CD40-CD40L, resulting in induction of various immune responses. We have elucidated that CD40 expressed on thymic B cells is essential for the maintenance of these B cells and central tolerance of T cells and its cell type-specific function is important for the germinal center formation and antibody production. Recently, it has been revealed that CD40 is also expressed on not only immune cells but also the other cell types such as vascular endothelial cells, fibroblasts and so on, and induces multi-functions depending on tissues. We have found that CD40 is constitutively expressed at the mRNA and protein levels on periodontal ligament cells but its function in periodontal inflammation and regeneration still remained unclear.

In this symposium, we would like to introduce our recent findings on the function(s) of CD40-CD40L interaction via periodontal ligament cells in the periodontal tissue and discuss how it is involved in the periodontal regeneration induced by Fibroblast growth factor-2 (FGF-2) that is clinically used for the regeneration of the periodontal tissue.

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

AD1-4 自己免疫疾患モデルにおける標的臓器常在型マクロファージの役割

○牛尾 綾, 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

シェーグレン症候群 (Sjogren's syndrome: SS) は涙腺・唾液腺などの外分泌腺を標的とする自己免疫疾患であり, 口腔領域では口腔乾燥症に伴う様々な不快症状を呈する. 本邦の指定難病の一つであり, 患者は年々増加傾向にある. SS の発症には遺伝的要因や環境要因を介した免疫寛容機構の破綻が関与すると考えられているが, その多様性・複雑性により病態の解明あるいは治療法の確立に難航している.

近年, 自然免疫細胞の一つであるマクロファージ (MΦ) には, 臓器特異性や機能的に異なる多くのフェノタイプが存在し, これらが自己免疫疾患を含む様々な病態に関与することが報告されている. SS 標的臓器である唾液腺にも多数の MΦ が存在することが分かっているが, その詳細や SS との関連については不明である. 本研究では, SS モデルマウスを使用し, 標的臓器に存在する MΦ の詳細を解明する. さらに, 肺などの腺外病変におけるマクロファージの役割を比較検討することによって, 自己免疫疾患の病態と標的臓器常在型マクロファージの新たな機能について検討した. その結果, 唾液腺 MΦ には表現型が異なる少なくとも 2 種類のサブセット (CD11b^{high}/CD11b^{low}) が存在した. 唾液腺組織から各サブセットの MΦ を調整し, ケモカインの発現を解析したところ, CD11b^{high} MΦ でより多くのケモカイン類の発現を認め, なかでもモデルマウスの唾液腺や肺などの炎症組織特異的に CCL22 の発現が亢進していた. モデルマウスでは CCL22 により T 細胞遊走能及び唾液腺浸潤 T 細胞での IFN- γ の発現亢進が認められた. CCL22 受容体である CCR4 の発現も唾液腺組織特異的に亢進していた. また, モデルマウスへの抗 CCL22 抗体投与により, 自己免疫病変の抑制効果が観察された. さらに, SS 患者の唾液腺周囲にも CCL22 発現 MΦ が多数存在することを確認し, 標的臓器 MΦ の産生する CCL22 が SS 病態に関与することが示唆された.

【利益相反】 開示すべき利益相反関係にある企業などはありません.

Analysis of resident macrophages in target organs of a disease model of autoimmunity

○Ushio A, Arakaki A, Kudo Y, Ishimaru N

Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

Sjögren's syndrome (SS) is an autoimmune disease that affects lacrimal and salivary glands characterized by diffuse lymphocyte infiltration. In this study, to clarify the role of macrophage (MΦ) in the onset or development of SS, we analyzed the distribution and function of MΦs in salivary glands of a murine model. In addition, tissue resident MΦs in the glandular lesions were compared with those in the extra-glandular lesion in the lung of SS model mice. MΦs in the salivary glands of SS model mice were classified into two phenotypes, CD11b^{high} and CD11b^{low}. In comprehensive gene analysis by PCR-array, chemokine gene expression was different between the two subsets of MΦ in salivary glands. Up-regulation of several macrophage-related genes was found in the CD11b^{high} MΦs. Among them, CCL22 produced by the resident MΦs played important roles in the migration, activation, or differentiation of T cells in the target organ to accelerate autoimmunity. Furthermore, autoimmune lesions in the target organs of SS model mice were prevented by administration of anti-CCL22 antibody. In addition, CCR4 expression, the receptor for CCL22, on effector T cells was enhanced in salivary glands of SS model mice. These findings suggest that the unique subsets of MΦ in the salivary glands may contribute to onset or development of SS.

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

KS1-1 口腔マイクロバイーム解析の臨床応用の可能性

○山下 喜久

九大 院歯 口腔予防

う蝕や歯周病などの口腔疾患はこれまで特定の病原性細菌が引き起こすという考えに沿って、コッホの原則を踏まえた病因論の解明が長年進められてきた。その成果として、バイオフィーム形成能やタンパク質分解能などの特徴から、いかにも病原性細菌とおぼしいミュータンス連鎖球菌や *Porphyromonas gingivalis* などが口腔病原性細菌として特定されている。しかし、単にこれらの細菌種の有無あるいは多寡だけで口腔疾患のリスクを判定することは難しく、これまでの口腔細菌学の研究成果が実際の歯科臨床に十分に生かされているとは言えない。その大きな理由に、これらの細菌と共に共存する莫大な種類と量の常在細菌の存在がある。すなわち、口腔疾患の真の病因論を知るためには、病原性細菌と常在細菌との相互作用を考慮した病因論の展開が必要である。このような時代の要請に呼応するかのよう、近年次世代シーケンス技術が飛躍的に発展し、マイクロバイームを構成する細菌種の網羅的解析が可能となってきた。その一方で、その解析結果をどのように病原性と関連付けて分析するべきかという新たな問題と向き合う必要が派生する。次世代シーケンスのデータから読み取られる莫大な数の細菌種の中から口腔疾患と最も関連の強い細菌種を単に選び出すだけでは、従来の細菌感染症の病因論解明の方法論において選択肢が広がったに過ぎず、マイクロバイーム解析の真価は発揮できない。マイクロバイームという多次元の因子と健康との関連を解明する上では、どのような細菌種の組み合わせが健康に影響するのかという、より複雑な観点から解析が必要となる。本シンポジウムでは、これまでの我々の研究結果から、口腔マイクロバイーム解析をどのようにして歯科臨床に生かすべきかを考察する。【利益相反】なし

Clinical capability of oral microbiome analysis in dentistry

○Yamashita Y

Sect Prevent & Pub Health Dent, Kyushu Univ

Along the pathogenic story that oral diseases are caused by specific pathogens, the etiologies of oral diseases such as dental caries or periodontal diseases have been elucidated based on the Koch's postulates over many years. Therefore, *Streptococcus mutans* or *Porphyromonas gingivalis*, which seem to be likely pathogenic bacteria, are identified as oral pathogens by characteristics such as biofilm formation or protein digestive ability. However, it is difficult to judge the risk of the oral diseases merely by the presence or absence of these bacteria or their quantity, and previous research on oral microbiology has not sufficiently contributed to clinical dentistry. The main reason is the existence of a huge number and amount of commensal bacteria coexisting with potential pathogenic bacteria. Thus, etiologic development considering the interaction between pathogenic and commensal bacteria is necessary to elucidate the true etiology of oral diseases. As if corresponding to the request of such times, next-generation sequencing technology has developed drastically, and comprehensive analysis of bacterial species composing the microbiome is enabled. On the contrary, a new problem arose regarding how the complicated outcome from microbiome analysis should be associated with pathogenicity. Picking a bacterial species showing the strongest connection with oral diseases from the vast numerical data from next-generation sequence results in merely increasing the choice of selection in a conventional infectious etiology, but cannot provide the true advantage of microbiome analysis. In order to elucidate an association of multidimensional factors with health, analyzing the combination of bacterial species affecting the health conditions is necessary from a more complicated viewpoint. At this symposium, I will discuss how we should utilize oral microbiome analysis in a dental practice based on our previous research findings. **Conflict of Interest:** None

KS1-2 メタボロミクスで読み解く歯周病原性細菌叢の代謝活性

○久保庭雅恵

阪大 院歯 予防歯科

我々はこれまでに、口腔細菌叢の数種の構成菌種を対象とした exo-メタボローム解析や菌体内メタボローム解析を実施し、単一菌種では存在しない、もしくは活性化していない代謝経路が、複数の菌種の共存によって中間代謝物や酵素活性を補完しあい、活性化する現象を確認している (Kuboniwa M, *et al.*, Nat Microbiol, 2017). また、これらの研究の一環として、単独では病原性を示さないが、歯周病関連菌や歯周病菌をサポートする能力を有することにより accessory pathogen と位置付けられている *Streptococcus gordonii* と、歯周病関連菌 *Fusobacterium nucleatum* とのアルギニン代謝物質を介した相互作用が、口腔細菌叢の歯周病原性を亢進させるトリガーとなる可能性を示した (Sakanaka A, *et al.*, J Biol Chem, 2015). さらに、唾液を用いた臨床メタボロミクス研究により、歯周組織の炎症程度 (periodontal inflamed surface area: PISA) を予測するモデルを構築したところ、複数のアルギニン代謝物質がモデル構築に大きく寄与していることが明らかとなり、*in vitro* 研究と合致する結果が得られている (Kuboniwa M, *et al.*, J Dent Res, 2016).

本シンポジウムでは、歯周病原性細菌叢を特徴付ける代謝活性について、国内外の最新のメタボロミクス研究により明らかとなった知見を報告させていただきたいと考えている。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Metabolomics reveals hidden metabolic interactions among periodontitis-related microorganisms

○Kuboniwa M

Dept Prevent Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent

In the oral cavity, microorganisms release variety of chemicals into the environment. These metabolic by-products secreted from a species are utilized by others as an energy or nutrient source. To reveal unknown metabolic interactions among oral bacterial species, we have been employing metabolomic approaches. By using CE/MS-based metabolomics, we demonstrated a metabolic cross-talk between an accessory pathogen *Streptococcus gordonii* and a periodontitis-related bacteria *Fusobacterium nucleatum* via arginine metabolites that promoted *F. nucleatum* accumulation on streptococcal biofilms. Furthermore, our GC/MS-based clinical metabolomic analysis revealed that arginine metabolism, polyamine metabolism, butyric acid metabolism, and lysine degradation were distinctive signatures of oral microbial dysbiosis in patients with periodontal inflammation. The latest findings in this research field, including these topics, will be discussed.

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

KS1-3 長鎖型 NGS を用いたヒト腸内マイクロバイオームのメタゲノミクス

○服部 正平

早大 院理工 先進理工

人体には数十兆個の微生物がマイクロバイオーム（菌叢）を形成し、ヒトの生理状態と深く関係している。すなわち、微生物叢の全体像を正確に把握、評価することは極めて重要である。この目的には、次世代シーケンサー（NGS）を用いたメタゲノミクスは腸、口腔、皮膚などのヒトマイクロバイオームを解析する上でもっとも強力な解析法である。これまでの多くの研究では、短いリード長（～300-bp）のイルミナ NGS がメタゲノミクスに一般的に使われているが、短鎖リードのアセンブリには菌叢に存在する様々な相同配列が原因となり、様々な微生物叢の遺伝因子群の完全な再構築に限界がある。この短鎖型 NGS を用いたメタゲノミクスの欠点を軽減するために、私たちのグループは長鎖型 NGS である PacBio Sequel を用いたロングリードのメタゲノミクスを開発した。その結果、平均リード長が～9-kb のロングリードを得ることができ、また、N50 が～200-kb となるコンティグがアセンブリで得られた。この値はショートリードの N50（～4-kb）よりもはるかに長い。本シンポジウムではヒト腸内マイクロバイオームのロングリードメタゲノミクスの詳細を紹介する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Long-read NGS-based metagenomics of the human gut microbiome

○Hattori M

Fac Sci Engin, Waseda Univ

Tens of trillions of microorganisms form the microbiomes in the human body, which are profoundly associated with host physiologies. Thus, it is obviously important to precisely evaluate the whole microbiome structure. To this end, NGS (next-generation sequencing)-based metagenomics is the most powerful approach for analysis of human microbiomes including gut, oral, and skin. In most studies, Illumina NGS of short reads of ~300-bp has been popularly used in metagenomics. However, short-read assemblies have several limitations for fully reconstructing the microbial genetic elements, mainly due to existence of various homologous sequences in the communities. To alleviate these shortcomings of short-read NGS, we developed long-read metagenomics with the PacBio Sequel system. The results showed that the average read-length of ~9-kb was successfully obtained, and the assemblies generated N50 of ~200-kb much longer than that of ~4-kb by short-reads. I will present the details of the long-read metagenomics of human gut microbiomes.

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

KS1-4 口-腸連関に基づく Periodontal medicine 病因論

○山崎 和久

新潟大 院医歯 口腔保健

近年、口腔細菌叢の dysbiosis (細菌叢の構成異常) が、肝硬変、すい臓がん、大腸がん、炎症性腸疾患など様々な疾患と関連することが報告され、口腔細菌叢と全身の健康の関心に注目が集まっている。また、口腔細菌叢の dysbiosis によって引き起こされる歯周病が糖尿病などの代謝性疾患、動脈硬化性疾患、自己免疫疾患、がんなど、様々な疾患のリスクを高めることが疫学研究により明らかになってきた。歯周病に関しては因果関係を説明するメカニズムとして菌血症、炎症性サイトカイン、分子相同性に基づく自己免疫応答が挙げられているが、生物学的メカニズムに関するエビデンスは十分とは言えない。一方、歯周病が関連すると報告されている疾患の多くは腸内細菌叢の dysbiosis と関連するという報告が蓄積されている。歯周病原細菌を含む dysbiosis に陥った口腔細菌を恒常的に飲み込むことで腸内細菌のバランスが崩れ、有害細菌の比率が高まり、有害物質が増加する状況が作られると仮定すると歯周病による様々な疾患リスクの増加に対する因果関係が合理的に説明できることになる。

我々はマウスを用いた一連の実験により代表的なヒト歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* が腸内細菌叢を変動させ、腸管のバリア機能の低下、軽度菌血症を誘導することを初めて報告した。*P. gingivalis* 口腔投与モデルマウスにおける耐糖能異常や脂肪・肝臓における炎症性変化は腸内環境に影響を与えた結果であることが強く示唆された。さらに、その後の解析で腸管免疫系のバランスにも影響を与えることが明らかになり、コラーゲン誘導関節炎モデルマウスを用いた実験で関節リウマチとの関連メカニズムを示唆するデータも得られている。このように、マウスにおける *P. gingivalis* 口腔投与の実験結果は、従来の仮説では十分に説明することができなかった歯周病と全身疾患の関連のみならず、口腔細菌叢の全身への影響についての因果関係を説明する合理的な生物学的分子基盤を提供すると考える。

【利益相反】なし

Oral-gut connection as a mechanism for the association between periodontal and systemic diseases

○Yamazaki K

Res Unit Oral-Syst Conn, Div Oral Sci Health Prom, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Oral bacteria spreading through the body have been associated with a number of systemic diseases. In this connection, the gut is no exception. Studies in animals and man have demonstrated that oral bacteria can translocate to the gut and change its microbiota and immune defense. This ectopic displacement of oral bacteria particularly occurs in severe general diseases such as rheumatoid arthritis, inflammatory bowel disease, and colorectal cancer, but also in patients with chronic periodontitis. *Porphyromonas gingivalis*, which creates dysbiosis in the subgingival pocket, may also cause dysbiosis in the gut. Also other oral bacteria may be involved. Furthermore, the dysbiotic gut microbiota may cause diseases elsewhere in the body. It is possible that a dysbiotic oral microbiota tends to dislocate more easily than a stable microbiota. The fact that chronic periodontitis can affect the gut microbiota emphasizes the need for periodontal prophylaxis and treatment to ameliorate gastrointestinal disorders. The intestinal link may also be another pathway for oral bacteria to cause systemic diseases and deserves more research.

Conflict of Interest: None

CS1-1 骨免疫学および感染症の最前線

○塚崎 雅之^{1,2}

¹東大 院医 免疫, ²医科歯科大 院医歯 細菌感染制御

口腔と全身の健康状態に相関があることは紀元前より報告されていたが、そのメカニズムは長い間不明であった。1891年にW.D. Millerが、「口腔細菌の菌血症は全身疾患に影響を及ぼす」という仮説を提唱して以降、多くの検証がなされ、歯周炎に伴う菌血症が心疾患やリウマチ、アルツハイマー病、糖尿病などといった全身疾患に悪影響を及ぼす可能性が考えられている。しかしながら、口腔細菌に対する免疫応答機序や生体防御機構に関しては、未だ不明な点が多い。

我々は、歯周炎に伴う口腔粘膜バリアの破綻に伴い口腔細菌が生体へ侵入すること、口腔細菌の侵入に応答して歯根膜線維芽細胞がIL-6を産生し、口腔粘膜に常在し本来は免疫寛容を担うFoxp3陽性T細胞を、骨破壊誘導能の高い特殊なTh17細胞(exFoxp3Th17細胞)へと分化転換させることを見出した。このexFoxp3Th17細胞は、IL-17産生を介して口腔上皮の抗菌プログラムを惹起し細菌を排除すると同時に、破骨細胞による歯槽骨吸収を誘導し感染源である歯の脱落を促すことで、感染および炎症を終息させる「諸刃の剣」として機能することが明らかとなった。本知見は、免疫細胞と骨構成細胞が協調し、いざとなったら感染経路を断つことで外敵から身を守るといふ、他のどのバリアにも見られない口腔のユニークな感染制御システムに光を当てたと同時に、これまで単なる炎症の有害な副次的効果とされてきた炎症性骨破壊の起源が、口腔細菌に対する原始的な生体防御機構であった可能性を示唆する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Frontiers of osteoimmunology and infectious disease research

○Tsukasaki M^{1,2}

¹Dept Immunol, Grad Sch Med Fac Med, The Univ of Tokyo, ²Dept Bacterial Infection and Host Response, Grad Sch Med Dent Sci, Tokyo Med Dent Univ

The oral-systemic link has long been appreciated in the field of medicine and dentistry. Since the causal role of the oral microbiome in systemic diseases was first reported in 1891 by the American dentist Willoughby D. Miller, we have witnessed the importance of the oral microbiota in various pathological conditions, including cardiovascular disease, Alzheimer's disease, rheumatoid arthritis, adverse pregnancy outcomes and diabetes. Oral bacteria have been suggested to enter into the systemic circulation via inflamed gingiva and directly affect other organs; therefore, the host may have a specialized defense system to protect against oral microbiota, but this mechanism has never been identified. Here we show that osteo-immune interplay at the oral barrier has a critical function in the eradication of oral bacteria during periodontal infection. Bacterial invasion leads to the generation of specialized immune cells that protect against bacteria by evoking mucosal immune responses as well as inducing bone damage, the latter of which also inhibits infection by removing the infected-tooth. Thus, inflammatory bone destruction, which has been regarded merely as an adverse secondary effect of inflammation, may be a part of host defense machinery against oral microbiota.

Conflict of Interest: The author declares no conflict of interest.

CS1-2 延髄 C1 ニューロンを介する新たな抗炎症効果

○安部 力

岐阜大 院医 生理

交感神経や副交感神経である自律神経の一時的な活性化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関与している。我々は、マウスに腎虚血再灌流を行う前に延髄 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と、急性腎不全が抑えられることを発見した。この作用は、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急性腎不全の軽減効果は交感神経を介することが示唆された。臨床応用を考える際、直接延髄 C1 ニューロンを刺激することは難しい。そこで我々は、延髄 C1 ニューロンを間接的に刺激することができる前庭系に注目して実験を行った。末梢前庭器（耳石器）からの投射先である前庭神経核を特異的に興奮させると、腎交感神経活動の増加がみられた。また、過重力曝露により延髄 C1 ニューロンの c-fos 発現が増加し、これは耳石器を破壊することで抑えられた。このことから、耳石器の刺激により延髄 C1 ニューロンを介して交感神経を活性化できることがわかった。そこで、10 分間の過重力曝露 24 時間後に腎虚血再灌流を行うと、急性腎不全が抑えられた。これらの結果から、前庭系の一時的な活性化は延髄 C1 ニューロンを介して抗炎症効果を引き起こすことが示唆された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

A novel anti-inflammatory effect through C1 neurons in medulla

○Abe C

Dept Physiol, Gifu Univ Grad Sch of Med

Temporary activation of the autonomic nerves system is known to regulate the inflammation. C1 neurons in the rostral ventrolateral medulla, which respond to various stressors, has a role to control autonomic nervous system for the homeostasis. We found that C1 neuron stimulation (5 Hz, 10 minutes) prior to renal ischemia reperfusion in mice suppresses acute kidney injury. This effect does not disappear even after vagotomy and administration of the corticosterone receptor blocker (Mifepristone), suggesting that protection of acute kidney injury by C1 neurons stimulation is mediated through the sympathetic nerve. It is difficult to stimulate C1 neurons directly in human. Therefore, we focused on the vestibular system, which can indirectly stimulate C1 neurons. Specific excitation of the vestibular nuclear complex induced increase in renal sympathetic nerve activity. Furthermore, c-fos expression in C1 neurons was increased by hypergravity load, which was suppressed by the peripheral vestibular lesion. Thus, stimulation of the peripheral vestibular organs can activate sympathetic nerves via C1 neurons. Acute kidney injury was suppressed by hypergravity load for 10 min, suggesting that temporary activation of the vestibular system causes an anti-inflammatory effect through C1 neurons in medulla.

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

CS1-3 マクロファージ・樹状細胞の分化と機能

○橋木 俊聡

医科歯科大 難治研 生体防御

マクロファージは、胎生期には主に卵黄囊赤血球系骨髄系前駆細胞 (erythroid-myeloid progenitor, EMP) から、生後は骨髄単球から分化する。一方、樹状細胞 (dendritic cell, DC) および単球は造血幹細胞に由来し、いくつかの中間前駆細胞を経て分化・成熟する。DC は、従来型 DC (conventional DC, cDC) および形質細胞様 DC (plasmacytoid DC, pDC) に分類される。我々はこれまでに、マウス骨髄を用いて、DC のみを大量に生み出す前駆細胞 (common DC progenitor, CDP) の同定に成功した。また、CDP は CD115⁺ および CD115⁻ 亜集団に分類された。CD115⁺ CDP は pDC よりもはるかに多くの cDC を産生したが、これとは対照的に、CD115⁻ CDP は pDC 分化に必須の転写因子 E2-2 を高発現しており pDC の主要な供給源であった。一方、マウス単球のみに分化する前駆細胞 (common monocyte progenitor, cMoP) もドイツの研究グループによって報告された。これらの背景に基づき、我々はヒト CDP や cMoP の同定を目的として研究を行い、ヒト臍帯血および骨髄中にヒト cMoP を発見した。ヒト CDP は未だ同定に至っていない。本シンポジウムでは、これら前駆細胞の概要を紹介し、応用の可能性にも言及したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Differentiation and function of macrophages and dendritic cells

○Ohteki T

Dept Biodefense Res, Med Res Inst, TMDU

Macrophages are mainly derived from yolk sac erythroid-myeloid progenitor cells (EMP) during embryonic stages and from bone marrow monocytes after birth. On the other hand, dendritic cells (DCs) and monocytes are derived from hematopoietic stem cells via sequential intermediate progenitors. DCs are classified into conventional DCs (cDCs) and plasmacytoid DCs (pDCs). We previously identified DC-restricted progenitors (common DC progenitors, CDPs) in mouse bone marrow. The CDPs are classified into CD115⁺ and CD115⁻ subpopulations. The CD115⁺ CDPs produce many more cDCs than pDCs, while the CD115⁻ CDPs express high amounts of E2-2, an essential transcription factor for pDC development, and are a major source of pDCs. Meanwhile, mouse monocyte-restricted progenitors (common monocyte progenitors, cMoPs) were reported by a German research group. Based on the background, we started to identify a human counterpart of mouse CDPs and cMoPs, and found human cMoPs in the cord blood and bone marrow. In contrast, human CDPs remain unidentified. In this symposium, I would like to introduce the outline of these progenitors and mention the application possibilities.

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

CS1-4 アレルギーにおけるネオ・セルフ

○小笠原康悦^{1,2}

¹東北大 加齢研 生体防御, ²東北大 院歯 口腔免疫

金属は、生体材料として医療に利用されており、患者の QOL を高めてきた。しかしその一方で、金属アレルギーなどの炎症が引き起こされることも報告されている。生体材料として金属を最も用いているのは歯科であり、金属アレルギーは歯科において解決すべき課題の 1 つである。パラジウムは、歯科金属材料として広く使われており、我々は、パラジウムを対象に、金属アレルギーのマウスモデルを作製し、分子機構の解析を行ってきた。金属アレルギーは、T 細胞依存性の遅延型アレルギーとされているが、病原性の T 細胞の存在や、T 細胞の金属の認識機構など、不明な点が多い。我々は、パラジウムアレルギーにおいて、病原性 T 細胞の存在を明らかにし、MHC class I がその発症に重要であることを明らかにした。さらに、我々は、第 3 世代 T 細胞受容体解析法を開発して、パラジウムアレルギーにかかわる T 細胞受容体の特定を試みた。本シンポジウムでは、第 3 世代 T 細胞受容体解析法について紹介し、T 細胞受容体解析の応用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。

Neo-self in metal allergy

○Ogasawara K^{1,2}

¹Dept Immunobio, IDAC, Tohoku Univ, ²Dept Immunobio, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Metals are used as biomaterials in clinical treatment and have improved in QOL of patients. However, it has been reported that inflammation and metal allergy is caused in some patients. Since the dentists have most used the biomaterial metal, metal allergy is one of the problems to be solved in dentistry. Palladium is widely used as a dental metal material. We have developed a mouse model of metal allergy for palladium to investigate the molecular mechanism of metal allergy. Metal allergy is considered to be T cell-dependent delayed allergy, but there are many unknown points, such as the presence of pathogenic T cells and the mechanism of metal recognition of T cells. We showed the presence of pathogenic T cells in palladium allergy and revealed that MHC class I is important for the onset. Furthermore, we developed a third generation T cell receptor analysis to identify T cell receptors involved in palladium allergy. In this symposium, we will introduce the third generation T cell receptor analysis method and discuss the application of T cell receptor analysis.

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

LS1-1 うま味受容体におけるリガンド選択性を決める分子メカニズム

○三坂 巧

東大 院農 応生化

うま味は食品中のグルタミン酸が呈する味であり、基本味の一つとして分類されている。うま味の特徴として、グルタミン酸と核酸（イノシン酸やグアニル酸）が共存すると、「うま味の相乗効果」が生ずることが知られている。この性質を担う受容体が、Gタンパク質共役型受容体ファミリーのヘテロダイマーで構成される T1R1/T1R3 である。

これまでの知見から、T1R1/T1R3 が受容するアミノ酸の種類が、動物種によって異なることが明らかになっている。ヒト T1R1/T1R3 はグルタミン酸によって強く活性化される一方で、マウス T1R1/T1R3 はグルタミン酸に対する感度が悪く、アラニンやセリンなど、他の幅広いアミノ酸によって強く活性化される。これがどのような分子メカニズムで生じているのかを明らかにするため、ヒトとマウスのキメラ旨味受容体や、それぞれの点変異体を数多く作製し、これら変異体のアミノ酸に対する応答パターンを詳細に調べることで、T1R1/T1R3 のリガンド認識に重要な残基の同定を行った。その結果、T1R1 の細胞外ドメインに存在する 12ヶ所のアミノ酸残基が、それぞれのリガンド選択性に大きく寄与していることが明らかになった。

変異体実験の結果を総合的に考察すると、T1R1/T1R3 が受容するアミノ酸の種類は「アミノ酸結合部位におけるアミノ酸選択性」と「アミノ酸結合部位以外の領域で決定される受容体の活性の強さ」という、2つの異なる因子の組み合わせで決定されることが示唆された。

【利益相反】 本発表に関する利益相反はありません。

Molecular determinants of ligand specificity in umami taste receptor, T1R1/T1R3

○Misaka T

Dept Appl Biol Chem, Grad Sch Agr Life Sci, Univ Tokyo

Umami, which has been identified as the savory sensation produced by L-glutamate, has been accepted as one of the five basic tastes. The unique characteristic of umami taste derives from the synergistic enhancement between L-amino acids and 5'-ribonucleotides, such as IMP and GMP. Previous studies have revealed the roles of T1R1/T1R3, a hetero-dimeric complex of G-protein-coupled receptors, in the perception of L-amino acids and the synergistic effect of IMP.

It has been shown that T1R1/T1R3 exhibits species-dependent differences in ligand specificity. Human T1R1/T1R3 specifically responds to L-Glu, whereas mouse T1R1/T1R3 responds more strongly to other L-amino acids than to L-Glu. To reveal the molecular mechanism underlying the difference, we analyzed chimeric human-mouse receptors and point mutants of T1R1/T1R3, and successfully identified 12 key residues that modulate amino acid recognition in the human- and mouse-type responses in the extracellular Venus flytrap domain of T1R1.

Analyses of multiple point mutants suggested that the combination of two distinct determinants, amino acid selectivity at the orthosteric site and receptor activity modulation at the non-orthosteric sites, may mediate the ligand specificity of T1R1/T1R3.

Conflict of Interest: No conflict of interest regarding this presentation.

LS1-2 うま味の末梢伝導路

○吉田 竜介

岡大 院医歯薬 口腔生理

ヒトでは、現在5つの基本味（塩味、酸味、甘味、苦味、うま味）が認められている。中でも、うま味はアミノ酸（特にグルタミン酸）や核酸（イノシン酸、グアニル酸）により生じる味覚で、アミノ酸と核酸の混合により、うま味をより強く感じる相乗効果を生じることが良く知られている。うま味の受容体は、Gタンパク質共役型受容体であるT1R1とT1R3のヘテロ二量体であり、この受容体はうま味の相乗効果に必須であると考えられる。

ヒトと同様マウスにもT1R1/T1R3から成るうま味受容体が存在し、うま味物質に対する感受性やうま味相乗効果に寄与している。だが、T1R1やT1R3を欠損する遺伝子改変マウスも、うま味物質に対する感受性を有するため、T1R1/T1R3以外にもうま味受容体が存在する可能性が考えられる。その候補として、代謝型グルタミン酸受容体（mGluR1, mGluR4）が挙げられる。味覚としてのグルタミン酸感受性は神経系に発現するmGluRsのグルタミン酸感受性の100倍以上も低く、神経系で発現するmGluRsが味覚受容体として機能するか不明であるが、味蕾で発現するmGluRsのmRNAは神経系で発現するものと比較し短縮されており、この短縮型遺伝子を培養細胞に発現させて機能解析するとグルタミン酸感受性は100倍以上低いことから、味蕾では受容体の細胞外領域の一部が欠損したtaste-mGluR1, taste-mGluR4がうま味受容体として機能するのではないかと想定される。

本発表では、各種遺伝子改変マウスの味細胞、神経、行動応答に関する研究結果を基に、これらうま味受容体から中枢へと至るうま味情報ラインが複数種存在することについて示し、それらがどのような役割を持つのかについて議論する。

【利益相反】 著者は利益相反が無いことを宣言する。

The peripheral neural pathways for umami taste

○Yoshida R

Dept Oral Physiol, Grad Sch Med, Dent Pharmaceut Sci, Okayama Univ

Our sense of taste is known to be comprised of five modalities, salty, sour, sweet, bitter and umami. Among them, umami taste is elicited by amino acids (especially L-glutamate) and nucleotides (inosinate and guanylate). The hallmark of umami taste is synergism between amino acid and nucleotide, which is mediated by umami receptor T1R1/T1R3. In mice, knocking out of either T1R1 or T1R3 reduced but not abolished umami sensitivity, suggesting the existence of another receptor(s) for umami taste. Metabotropic glutamate receptors (mGluRs) are such candidates. In taste buds, truncated mRNAs of mGluR1 and mGluR4 were shown to be expressed and these truncated mGluR1 and mGluR4 had more than 100-fold lower sensitivity to L-glutamate, which is close to umami taste sensitivity in mice. Thus taste-mGluR1 and taste-mGluR4 may also function as umami taste receptors in taste buds. In this presentation, I would like to show the existence of multiple coding lines for umami taste, which transmit umami information from taste receptors to the central nervous system and to discuss the role of each umami coding line for mouse behaviors.

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

LS2 若手研究者のための Author Workshop : 学術論文作成に必要な効率的な PubMed 文献検索法と画像処理について

○大島 勇人^{1,2}

¹新潟大 院医歯 硬組織形態, ²J Oral Biosci 誌副編集委員長

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、得られた情報の信頼性の評価の鍵を握る画像処理技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, search the PubMed, and process images

○Ohshima H^{1,2}

¹Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Vice 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 image processing tips. Finally, I would give a talk about some knowledge of making a scientific paper.

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

KDS1-1 唾液腺研究に果たす歯科基礎医学会と日本唾液腺学会の役割

○天野 修

明海大 歯 解剖

日本唾液腺学会は、唾液腺に関する我が国で唯一の学際的な全国学会で1956年に「唾液腺ホルモン研究会」として、唾液腺内分泌、特に「パロチン」の基礎的・臨床的研究を行っていた東京大学の緒方知三郎を代表として発足した。しかし、その後は唾液腺のあらゆる領域の研究を扱い、名称も日本唾液腺研究会、日本唾液腺学会と変遷して現在に至っている。

唾液腺学会で発表されている研究は、①正常唾液腺の構造・機能に関する研究、②唾液腺疾患の基礎・臨床研究、③唾液を用いた基礎・臨床研究に大きく分けられる。会員の所属も歯学部と医学部の解剖学、生理学、生化学、薬理学、病理学、耳鼻咽喉科学や口腔外科学の他、保健医療系学部の検査関連研究室など多岐にわたっている。従って、唾液腺学会における基礎医学研究は歯科基礎医学会の取り扱う領域と重なり、多くの研究者が両学会に所属して活躍している。

本シンポジウムでは、唾液腺再生をテーマに、その基盤となる唾液腺の修復と再生に関する基礎研究から、再生医療の直接的な基盤となる研究までの一連の流れを、両学会所属会員から発表し、討論することを目的とする。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Roles in salivary gland research by Japanese Association for Oral Biology and Japan Salivary Gland Society

○Amano O

Div Anat Meikai Univ Sch Dent

Japan Salivary Gland Society (JSGS) founded in 1956 as “Salivary Hormone Society” by Dr. Tomosaburo Ogata (University of Tokyo) who studied endocrine function of salivary glands especially “Parotin”. However, name of the society has been changed to the present one according to the expansion of research area of the JSGS members.

Major research area presented and discussed in recent JSGS meetings include 1) the morphology and function of normal salivary glands, 2) the basic and clinical research in salivary gland disorders, and 3) the basic and clinical research in saliva itself. Laboratories of JSGS members include various fields such as anatomy, physiology, biochemistry, pharmacology, pathology, otorhinolaryngology and oral and maxillofacial surgery in medical/ dental schools as well as medical technology in co-medical schools. Therefore, many JSGS members of basic sciences belong simultaneously to the Japanese Society for Oral Biology (JSOB).

The present symposium sponsored by JSOB and JSGS aims to discuss the basic mechanisms of salivary gland regeneration.

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

KDS1-2 In vivo 機能解析と遺伝子情報に基づく唾液腺機能亢進機構の研究と口腔乾燥症治療への提案

○谷村 明彦¹, 根津 顕弘¹, 森田 貴雄²

¹北医療大 歯 薬理, ²日歯大新潟 生化

我々は腺房細胞に発現させた高感度 Ca^{2+} インドikatorによる in vivo Ca^{2+} イメージング, 微小圧力センサーを使った唾液分泌のリアルタイム・モニタリング, およびレーザースペックル法による血流イメージングによる in vivo 機能解析システムを開発した. このシステムでは, 薬物や神経刺激などを介する唾液分泌機構の解析のみならず, 口腔乾燥症の治療薬や治療法の開発に活用できると考えている. 唾液分泌は, 腺房細胞のムスカリン受容体の活性化による細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇とそれに続く一連のイオンチャネルやトランスポーターの活性化で説明されている. 口腔乾燥症治療に使われるピロカルピンやセビメリンは, ムスカリン受容体の部分作動薬であるが, 実際の治療に使われる薬物濃度と Ca^{2+} 応答を起こす濃度の間には大きな解離があり, これらの薬物によって「唾液分泌が改善」するしくみは必ずしも明らかではない. 興味深いことに, ラットを使った実験において, ピロカルピン刺激 1 週間後のラットの唾液腺において, アセチルコリン (ACh) 感受性が高まる基質の変化が起こることが確認されている. また, 唾液腺の片側を結紮すると, 結紮側の萎縮に伴って反対側が代償性に肥大する. 唾液腺の肥大によって, 機能不全に陥った結紮側の唾液分泌を補っているのだろうか? In vivo Ca^{2+} イメージングを使った解析によって, 反対側の唾液腺の ACh 感受性が高まる機能亢進が起こることが明らかになっている. この様な機能亢進機構を薬物などで人為的にコントロールすることができれば口腔乾燥症の治療への応用が可能である. 我々はこれらの唾液腺に発現する遺伝子を次世代シーケンサーを使って網羅的に解析し, 代償性機能亢進やピロカルピン刺激によって変化する遺伝子を同定した. これらの遺伝子を指標にして, 唾液分泌を改善する可能性のある薬物のスクリーニングが可能である. さらに Ca^{2+} シグナルや唾液分泌の in vivo 機能解析によって治療効果の検証が可能である. 唾液分泌を「起こす」のではなく「起こしやすく」する治療を提案し, 遺伝子情報に基づく解析と Ca^{2+} シグナルや唾液分泌の in vivo 機能解析による検証に基づく治療法開発への展開について議論する. **【利益相反】** 著者は利益相反が無いことを宣言する.

In vivo functional analyses and genetic information for studying salivary hyperfunctions and development of a novel dry mouth treatment

○Tanimura A¹, Nezu A¹, Morita T²

¹Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ²Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

We developed an intravital imaging system for monitoring Ca^{2+} responses in rat submandibular gland (SMG) acinar cells in live animals. We also employed a fiber optic pressure sensor and a laser speckle imaging flowmeter for the real-time monitoring of salivary flow and blood flow, respectively. These novel in vivo experimental techniques revealed that the ligation of main excretory duct of unilateral SMG enhancement of Ca^{2+} responses and salivary secretion in association with compensatory hypertrophy in the contralateral side. We also found that pilocarpine (Pilo), which is known to be a muscarinic agonist and a therapeutic drug for Sjögren syndrome, causes the increases in salivary secretion from rats at 1-week post-administration. We think that the elucidation of mechanisms for this hyperfunctions of salivary glands will allow us to develop a novel treatment for the dry mouth. Comprehensive analyses of the mRNA expressions in SMGs and quantitative RT-PCR analyses revealed changes in expression of several genes associated with the hyperfunction of submandibular glands in the Pilo-administration and the compensatory hyperfunctions. I will discuss about the use of these genetic information and the in vivo functional analyses to develop novel treatments for the "enhancement" rather than "stimulation" of salivary secretions.

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

KDS1-3 唾液腺形成における mTOR シグナル伝達経路の解析

○阪井 丘芳¹, 酒井 学^{1,2}, 小野 瞳¹, 井階 一樹¹, 新家 敬史¹

¹阪大 院歯 顎口腔機能, ²阪大 歯病 検査

再生医療を実現するために, tissue engineering や organ engineering は臨床医や基礎研究者にとって重要であり, 新たな技術革新が期待されている. 手技的にも取り扱いやすい唾液腺は, 50 年以上前から臓器形成のモデルとして発生生物学領域の研究者に活用されてきた. 唾液腺の形成過程にとって分枝形態形成は必須の現象であり, 肺, 腎臓, 乳腺, 涙腺を初めとする様々な器官形成に関与している. 本研究では, 唾液腺形成における mammalian target of rapamycin (mTOR) シグナル伝達経路に注目して, mTOR complexes 1 and 2 (mTORC1 and mTORC2) を含めた解析を行った. rapamycin (mTOR シグナル阻害薬) は, マウス胎仔唾液腺の分枝形態形成を抑制し, mTOR シグナルに関与する mTORC1 のリン酸化を阻害した. さらに, mTORC1 の上流で mTORC2 の下流にある AKT が, LY294002 (a phosphatidylinositol 3-kinase 阻害薬) によって阻害され, AKT シグナル伝達経路との関連も示唆された. さらに, Rapamycin で処理した新生仔 ICR マウスは, 体重の減少と唾液腺サイズの縮小を認めており, 胎仔, 新生仔の双方において, mTOR シグナルが器官形成に大きな影響を与えていることが示唆された. 近年, mTOR シグナル伝達経路が, がん化, 老化, シェーグレン症候群など多くの疾患・病態に関与していることが報告されており, 本分子機構の制御は, 新たに疾患の病因解明, 治療法の確立に貢献できると期待されている.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

Analysis of the mTOR signaling pathway in salivary gland development

○Sakai T¹, Sakai M^{1,2}, Ono-Minagi H¹, Ikai K¹, Araie T¹

¹Dept Oral-fac Dis Osaka Univ Grad Sch Dent, ²Dept Clinic Lab, Osaka Univ Dent Hosp

Development of the salivary gland is characterized by extensive branching morphogenesis. Although various molecules have been implicated in salivary gland development, the role of the mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway, including both mTOR complexes 1 and 2 (mTORC1 and 2), in salivary gland development is unknown. Here, we examined protein expression levels related to the mTOR signaling pathway using an *ex vivo* submandibular salivary gland (SMG) organ culture. We showed that branching buds in the salivary glands were substantially decreased and phosphorylation of mTORC1 signaling pathway related proteins (mTOR, p70 ribosomal protein S6 kinase 1 and eukaryotic initiation factor 4E-binding protein 1) was inhibited by rapamycin (an mTOR inhibitor). In addition, AKT, which is an upstream protein kinase of mTORC1 and is downstream of mTORC2, is inhibited by LY294002 (a phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor), but not by rapamycin. Moreover, rapamycin-treated ICR neonatal mice exhibited a reduction in both body weight and salivary glands compared with vehicle-treated neonatal mice. The present data indicate that the mTOR signaling pathway, including both mTORC1 and mTORC2, plays a critical role in salivary gland development both in *ex vivo* SMG organ culture and ICR neonatal mice *in vivo*.

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

KDS1-4 マウス ES 細胞由来唾液腺オルガノイドを用いた唾液腺再生

○田中 準一, 美島 健二

昭大 歯 口腔病理

近年, 生体内の臓器発生過程を模倣することで, ES 細胞および iPS 細胞などの多能性幹細胞から 3 次元的な組織構築と臓器特有の機能を有したオルガノイドが各種臓器で分化誘導されている。しかしながら, 唾液腺オルガノイドの分化誘導方法は確立されていなかった。

我々は, 唾液腺発生初期の遺伝子発現プロファイルを用いて Laser micro dissection を用いて作製し, 胎生期唾液腺発生過程において発現の高い転写因子として Sox9, Foxc1 を同定した。この 2 つの転写因子をマウス ES 細胞から分化誘導した口腔粘膜に過剰発現することで, 唾液腺オルガノイドが分化誘導可能であることを見出した。ES 細胞由来唾液腺オルガノイドは腺房細胞, 導管細胞, 筋上皮細胞が極性を持って配列し, その発現パターンは胎生期唾液腺に類似していた。遺伝子発現プロファイルの解析結果からも, 唾液腺オルガノイドは胎生期唾液腺と非常に類似した発現プロファイルを示していた。さらに, 唾液腺切除マウスへの唾液腺オルガノイド同所移植実験の結果からは, 移植によって唾液腺オルガノイドは宿主の排泄部導管と接続しながら生着し, 機能的な唾液腺組織へと成熟することが明らかとなった。また, 唾液腺オルガノイドと胎生期唾液腺間葉組織との同時移植マウスでは, 神経応答性の唾液分泌能を有することが明らかとなり, 組織学的な解析からも移植した唾液腺オルガノイドには宿主由来の血管および神経が伸長していた。これらの結果より ES 細胞由来唾液腺オルガノイドの同所移植によって機能的な唾液腺組織が再生可能であることが示された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Regenerating salivary gland with mouse embryonic stem cell-derived salivary gland organoid

○Tanaka J, Mishima K

Div Pathol, Dept Oral Diag Sci, Showa Univ, Sch Dent

Recently, various tissues of organoids derived from pluripotent stem cells have been established. However, functional salivary gland organoid had not been developed. Here, we generated gene expression profiles of embryonic salivary gland rudiment and identified two transcription factors (Sox9 and Foxc1) responsible for the differentiation of mouse embryonic stem cell-derived oral ectoderm into the salivary gland rudiment in an organoid culture system. The induced salivary gland organoids from mouse embryonic stem cells consisted of acinar cells, ductal cells, and myoepithelial cells, and morphologically mimicked the embryonic salivary glands. The gene expression profiles of induced salivary gland organoids were found to be relatively similar to those of embryonic salivary glands. Moreover, the salivary gland organoid developed *in vivo* and had physiological functions, following orthotopic transplantation into mice whose salivary glands have been removed. Engrafted induced salivary gland developed into the correct gland structures with connections to excretory ducts and could produce the saliva by nervous stimulation. This study provides evidence of the regeneration of a functional salivary gland through transplantation of the salivary gland organoid from embryonic stem cells.

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

US1-1 口腔癌の進展と抵抗性における細胞外小胞の重要な役割

○江口 傑徳

岡大 院医歯薬 歯科薬理

近年、がんの進展や抵抗性は、腫瘍の微小環境を構成する細胞間のコミュニケーションによって促進されることが分かりつつある。演者らは、エクソソーム等の細胞外小胞による細胞間コミュニケーションに着眼し、口腔がん進展機構解明と新規治療法確立を志している。これまでに詳細に研究されてきた細胞遊走、腫瘍形成性、上皮間葉転換、がん幹細胞様特性などは、いずれもがん細胞から放出された細胞外小胞の働きで促進されることがある。また、分子標的薬といえども、細胞外小胞とともに放出されてしまう新たな薬剤耐性機構が見出されている。本演題では、上記の諸問題の解決を目指した最近の研究を紹介し、参加者間でのコミュニケーションを図りたい。

Related publications

1. Fujiwara T et al (2018) Carcinogenic EMT initiated by oral cancer exosomes is inhibited by anti-EGFR antibody cetuximab. *Oral Oncol.*
2. Fujiwara T et al (2018) Anti-EGFR antibody cetuximab is secreted by oral squamous cell carcinoma and alters EGF-driven mesenchymal transition. *BBRC.*
3. Ono K et al (2018) HSP-enriched properties of extracellular vesicles involve survival of metastatic oral cancer cells. *J Cell Biochem.*

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Crucial roles of extracellular vesicles in progression and resistance in oral cancer

○Eguchi T

Dept Dent Pharmacol, Grad Sch Med, Dent Pharmaceut Sci, Okayama Univ

It has been recently revealed that cancer progression and resistance are often promoted by trans-cellular communication between the cells residing in tumor microenvironment. We have focused on the trans-cellular communication through extracellular vesicles (EV) such as exosomes and aspire to elucidate the mechanism of oral cancer progression and to develop novel therapeutics for cancer. Cell migration, tumorigenicity, epithelial-mesenchymal transition (EMT), and cancer stem cell-like properties had been investigated in detail, whereas these malignancy events have been more recently found to be often promoted by EV released from cancer cells. Even molecularly targeted drugs could be released with EV from the targeted cells, which we defined to be a novel drug resistance mechanism in cancer. I intend to talk about our recent research aiming to solve the above-mentioned issues stimulating trans-participant communication.

1. Eguchi T et al (2019) Regulatory roles of HSP90-rich extracellular vesicles. In: *HSP90 in Human Diseases and Disorders. Heat Shock Proteins Book Series, vol. 19.*
2. Eguchi T et al (2018) Organoids with cancer stem cell-like properties secrete exosomes and HSP90 in a 3D nanoenvironment. *PLoS One.*
3. Namba Y et al (2018) Depletion of lipid efflux pump ABCG1 triggers the intracellular accumulation of extracellular vesicles and reduces aggregation and tumorigenesis of metastatic cancer cells. *Front Oncol.*

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

US1-2 再発又は転移性頭頸部扁平上皮癌の病態解明と分子標的薬

○中村 博幸

金沢大 医薬保健研究 顎顔面口腔外科

再発又は転移性頭頸部扁平上皮癌 (R/M SCCHN) は予後不良であり治療法も限定される。近年、分子標的薬 (セツキシマブ, 抗 EGFR 抗体) や免疫チェックポイント阻害剤 (ニボルマブ, 抗 PD-1 抗体) が頭頸部癌に適用されたが, それぞれ有効な患者は一部に限定されるため, その詳細な病態の解明が治療薬の選択に必要である。R/M SCCHN 細胞において上皮間葉移行 (EMT) 関連遺伝子の発現亢進が観察され, EMT の進行が示唆された。EMT は EGFR の発現低下を誘導し, セツキシマブの感受性低下に関わることを明らかにした。近年, 微小管阻害剤のエリブリンが乳癌細胞で MET を誘導することが報告され, R/M SCCHN 細胞においても同様に MET が誘導されることを明らかにした。さらに R/M SCCHN 細胞は, エリブリン処理により EGFR の発現亢進が誘導されセツキシマブへの感受性が高まるとともに, 乳癌細胞の IC50 値と比較しても一桁高い感受性を示していた。R/M SCCHN 細胞をマウスに移植し形成した腫瘍においてもエリブリンはパクリタキセルおよびビンブラスチンなどの他の微小管阻害剤に比べても高い感受性を示していた。これらの結果は, R/M SCCHN の治療にエリブリンとセツキシマブの併用療法が有効である可能性を示唆している。一方, PD-1 のリガンドである PD-L1 の mRNA 量は局所進行性頭頸部扁平上皮癌 (LA SCCHN) 細胞で R/M SCCHN 細胞よりも高発現しているにも関わらず, 膜表面の PD-L1 タンパク量は R/M SCCHN 細胞のそれより減少していた。R/M SCCHN 細胞と比較し, LA SCCHN 細胞で発現が上昇している MMP として MMP-7 と MMP-13 が同定された。MMP-7 と MMP-13 は精製した PD-L1 を分解していた。また, LA SCCHN 細胞膜上での PD-L1 の分解は MMP-13 特異的阻害剤でのみ抑制され, MMP-7 阻害剤では抑制されなかったことから, PD-L1 は癌細胞膜上で主として MMP-13 の分解により発現量が調節されている可能性が示唆された。さらに MMP-13 を高発現している癌細胞は膜上の PD-L1 量の減少により, 抗 PD-1 抗体の効果が高い可能性が考えられ, 治療効果を予測するマーカーとして有用であ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。

Elucidation of the pathophysiology of recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck and molecular targeting agents

○Nakamura H

Dept Oral and Maxillofac Surg, Kanazawa Univ Grad Sch Med Sci

Recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (R/M SCCHN) has a poor prognosis and limited treatment. Recently, molecular targeted drugs (cetuximab, anti-EGFR antibodies) and immune checkpoint inhibitors (nivolumab, anti-PD-1 antibodies) have been applied to head and neck cancer, but only a small proportion of patients are effective, so analyzing mechanism is necessary for drug selection. R/M SCCHN cells showed higher sensitivity to cetuximab as well as increased EGFR expression induced by treatment with eribulin. Eribulin was also more sensitive than other microtubule inhibitors such as paclitaxel and vinblastine in tumors that were transplanted into mice with R/M SCCHN cells. On the other hand, the level of PD-L1 mRNA, a ligand for PD-1, was decreased in the membrane surface PD-L1 protein level compared with that in R/M SCCHN cells, despite its higher expression in locally advanced head and neck squamous cell carcinoma (LA SCCHN) cells than in R/M SCCHN cells. Degradation of PD-L1 on the LA SCCHN cell membrane was suppressed only by an MMP-13-specific inhibitor, but not by an MMP-7 inhibitor.

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

US1-3 腫瘍血管内皮細胞による Biglycan の分泌を介したがんの転移促進

○間石 奈湖, 樋田 京子

北大 院歯 血管生物分子病理

がん細胞は腫瘍血管内に侵入して転移することから、腫瘍血管はがん転移の関門であり、がん細胞と血管内皮細胞の相互作用は重要である。われわれはこれまで、がんの血管を裏打ちする腫瘍血管内皮細胞は正常血管内皮細胞とは異なる性質を示すことを見出した。さらに、ひとくちに腫瘍血管内皮細胞といってもがんの悪性度の違いにより多様性があることを見出し、腫瘍血管内皮細胞が周囲のがん微小環境と相互作用することが示唆された。本研究ではこれまでの腫瘍血管内皮細胞の異常性を踏まえ、腫瘍血管内皮細胞のがん転移への関与について検討した。

マウス正常皮膚から正常血管内皮細胞を、マウス皮下移植腫瘍（低転移性、高転移性）からそれぞれ腫瘍血管内皮細胞（TEC）を分離・培養した。低転移性がん細胞と各血管内皮細胞を混合してマウスに皮下移植すると、高転移性腫瘍由来 TEC との共移植では肺転移が多く見られた。これらの現象には高転移性腫瘍由来 TEC が分泌する糖タンパク Biglycan が重要な役割を果たすことが明らかになった。TEC で Biglycan 発現が高く維持されているメカニズムとして、DNA メチル化が関与していた。本研究により、Biglycan を過剰発現する腫瘍血管内皮細胞のがん転移を促進するというがん転移の新しい機序を解明した。TEC 由来 Biglycan を標的にする、がん転移の新たな診断薬ならびに治療薬の開発の可能性について示された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Promotion of metastasis by tumor endothelial cells via secretion of biglycan

○Maishi N, Hida K

Dept Vascular Biol Mol Pathol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

It is important to crosstalk between tumor cells and endothelial cells for hematogenous metastasis, since tumor blood vessels are gateways for distant metastasis. We have reported that tumor endothelial cells (TECs) demonstrate distinct phenotypes compared to their normal counterparts. Furthermore, we demonstrated that the features of TECs are different depending on tumor malignancy, which suggested that TECs communicate with their surrounding tumor microenvironment. In this study, we investigated the contribution of TECs to metastasis.

Normal endothelial cells were isolated from mouse normal dermis and TECs were isolated from tumor xenografts of low and high metastatic tumors, respectively. Low metastatic tumor cells were co-implanted with each different type of EC. Co-implantation of TECs isolated from highly metastatic tumors accelerated lung metastases of low metastatic tumors. In addition, we found that biglycan, a small leucine-rich repeat proteoglycan, secreted from TECs is the key molecule for instigating tumor metastasis. Demethylation of the promoter is the mechanism underlying the dysregulated expression of biglycan in TECs. Collectively, our results demonstrated that TECs aberrantly express biglycan, in turn they instigate tumor cells to metastasize, which is a novel mechanism for tumor metastasis. Targeting TEC-derived biglycan may provide an important strategy to inhibit tumor metastasis.

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

US1-4 口腔扁平上皮癌における分子シャペロン R2TP の機能解析と新規ターゲットの探索

○柿原 嘉人, 佐伯万騎男

新潟大 院医歯 歯科薬理

R2TP は、酵母からヒトまで真核生物において広く保存されたタンパク質複合体であり、ヒトでは Pontin, Reptin, RPAP3, PIH1D1 から構成される。AAA+(ATPases Associated with diverse cellular Activities)ファミリータンパク質である Pontin-Reptin のヘテロ六量体と、RPAP3-PIH1D1 のヘテロ二量体が結合することで R2TP が形成される。近年、R2TP が様々なタンパク質複合体の四次構造形成を調節する分子シャペロン機能を持つことが示され、標的複合体に対する作用機構について解析が進められている。R2TP の既知の標的として、PIKKs (phosphatidylinositol 3-kinase-related kinases), snoRNP (small nucleolar ribonucleoprotein), RNA polymerase II などが挙げられ、我々は、酵母や哺乳細胞の系を用いて、R2TP が box C/D snoRNP 形成や mTORC1 複合体形成を介してリボソーム合成制御に関与することを明らかにしてきた。他の様々な癌と同様に口腔扁平上皮癌細胞においても核小体の明瞭化や肥大化が観察され、リボソーム合成が活性化していることが示唆される。我々は、R2TP がどのようなメカニズムで口腔扁平上皮癌細胞の分裂増殖を活性化しているのか分子レベルでの解析を行った。免疫組織染色の結果から、R2TP は軽度異型上皮ではそれぞれの因子が核と細胞質に散在する一方で、口腔扁平上皮癌組織では Ki-67 で染色された分裂活性の高い細胞において核に共局在することが明らかとなった。また、口腔扁平上皮癌由来細胞を用いた各因子のノックダウン解析により、RPAP3 以外の三因子 Pontin, Reptin, PIH1D1 が細胞増殖や遊走に大きく寄与することが明らかになった。このことから、R2TP は口腔扁平上皮癌細胞の核内に局在することでその増殖活性を高めていることが示唆された。さらに、R2TP の新規なコファクターやターゲット因子を同定するため、共免疫沈降タンパク質を質量分析にて同定したところ、HEAT repeat 構造を持つタンパク質の割合が高かった。本アップデートシンポジウムでは、それらのタンパク質に対する R2TP の機能的な関与についても併せて発表したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Functional analyses of the molecular chaperone R2TP in the progression of oral squamous cell carcinoma (OSCC) and the identification of its novel targets

○Kakihara Y, Saeki M

Div Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

R2TP is a widely conserved protein complex in eukaryotes. In human, R2TP is composed of heterohexamer of Pontin and Reptin associated with heterodimer of RPAP3 and PIH1D1. It has been revealed that R2TP is a quaternary chaperone, which assists in assembly/maturation of multisubunit protein complexes. The targets of R2TP has been identified, such as PIKKs (phosphatidylinositol 3-kinase-related kinases), snoRNP (small nucleolar ribonucleoprotein), and RNA polymerase II. We have revealed that the R2TP controls ribosome biogenesis through chaperoning box C/D snoRNP and mTORC1 complex. As seen in other cancers, ribosome biogenesis is highly activated in OSCC, which is recognized by the enlarged and prominent nucleoli. Therefore, we analyzed how the R2TP is involved in cell proliferation and growth in OSCC. Immunohistochemical analysis of OSCC tissues showed that the all component of R2TP colocalizes in nuclei especially in actively proliferating cells, which are stained by Ki-67. Knockdown analysis showed that Pontin, Reptin, and PIH1D1, except for RPAP3, are required for the proliferation of OSCC cells, suggesting that R2TP confers proliferation activity on the cells by localizing/forming in nuclei. Furthermore, we identified novel targets of R2TP in OSCC, containing several HEAT repeat proteins, which also will be presented in this symposium.

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

US2-1 Nitrate/nitrite promote the growth and nitrite production of oral *Veillonella*

○Dimas Prasetianto Wicaksono^{1,2}, Jumpei Washio¹, Nobuhiro Takahashi¹

¹Div Oral Ecol Biochem, Dept Oral Biol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

²Dept Pediatr Dent, Airlangga Univ, Surabaya, Indonesia

Introduction

In the oral cavity, over 700 bacterial species are living with their diversity of metabolic activities, and some of them can utilize nitrate (NO_3^-). NO_3^- is easily found in green vegetables, and furthermore 25% of ingested NO_3^- will be secreted as salivary component; therefore NO_3^- is always available in the oral cavity. This NO_3^- will be reduced to nitrite (NO_2^-) by nitrate-reducing bacteria such as *Veillonella* spp. NO_2^- is known to have an antimicrobial activity, and can inhibit the growth and metabolic activities of caries- and periodontitis-associated oral bacteria such as *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis*. NO_2^- is also reported to inhibit the acid production of oral plaque bacteria. Hence, it might contribute to the prevention of the oral diseases.

The NO_2^- production of oral *Veillonella* can be regulated by some environmental factors, and our previous study revealed that the NO_2^- production was increased by lactate especially under acidic condition. As mentioned above, NO_3^- and NO_2^- levels can fluctuate depending on individual's vegetable-intake. Therefore, the aim was to elucidate the effect of NO_3^- and NO_2^- on the growth and NO_2^- production of oral *Veillonella*.

Materials and Methods

Veillonella atypica (*Va*) and *Veillonella parvula* (*Vp*) were cultured anaerobically in the medium with/without 1 mM potassium nitrate (KNO_3) or potassium nitrite (KNO_2) and their growth were monitored. At logarithmic growth phase, the bacterial cells were harvested, washed and re-suspended. The reaction mixture contained bacterial cells ($\text{OD} = 1$ at 660 nm), 1 mM KNO_3 and 0-50 mM sodium lactate in 40 mM potassium phosphate buffer (pH 5 or 7). After incubation for 30 min at 37°C, the reaction mixtures were centrifuged, and the concentration of nitrite in supernatant was measured with Griess reagent kit.

Results and Discussion

The presence of NO_3^- shortened the lag phase of *Va* and *Vp* and increased the NO_2^- production 5-30 and 3-55 times at pH 7, and 4-17 and 2-29 times at pH 5 ($p < 0.05$, paired t-test), respectively. The presence of NO_2^- shortened the lag phase of *Va*. However, the NO_2^- production of *Va* and *Vp* increased 5-27 and 1.3-40 times at pH 7, 1.5-25 and 4-20 times at pH 5 ($p < 0.05$, paired t-test). Hence, the promotion of growth and nitrite production of oral *Veillonella* by NO_3^- and NO_2^- might contribute to preventing oral diseases by suppressing the growth and metabolism of oral disease-associated bacteria. Keywords : nitrate, nitrite, growth, *Veillonella*, caries

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

US2-2 16S rRNA 解析法を用いた、日本人口腔癌患者の細菌叢解析研究

○朴 鐘旭¹, 高橋 靖治², 細見 晃司³, 山田 友宣⁴, 小林 綾花⁴, 山口 裕二⁴,
池谷 進⁴, 國澤 純³, 水口 賢司¹, 前田 伸子², 大島 朋子²

¹医薬基盤・健康・栄養研, バイオインフォマテックスプロジェクト

²鶴大 歯 口腔微生物

³医薬基盤・健康・栄養研 ワクチン・アジュバント研究セ ワクチンマテリアルプロジェクト, 腸内環境システムプロジェクト

⁴脳神経疾患研附属総合南東北病院 口腔外科

Analysis of oral microbiota in Japanese oral cancer patients using 16S rRNA sequencing

○Park J¹, Takahashi Y², Hosomi K³, Yamada T⁴, Kobayashi A⁴, Yamaguchi Y⁴, Iketani S⁴,
Kunisawa J³, Mizuguchi K³, Maeda N², Ohshima T²

¹Lab Bioinformatics, Natl Inst Biomed Innovation, Health and Nutr

²Dept Oral Microbiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

³Lab Vaccine Mater, Cent for Vaccine and Adjuvant Res, and Lab Gut Environmental System, Natl Inst Biomed Innovation, Health and Nutr

⁴Dept Oral and Maxillofac Surg, Southern TOHOKU Res Inst for Neurosci, Southern TOHOKU Gen Hosp

Objectives: It is important to determine the cause of increasing oral cancer occurrence and mortality rates in Japan, because the mortality rate has recently decreased in other developed countries. The impact of microbiota in carcinogenesis, especially in the digestive tract has been reported. This study aimed to clarify the relationship between oral cancer and oral microbiota in Japanese patients.

Methods: DNA was extracted from salivary samples of 60 oral cancer patients and 80 non-cancer individuals as controls. We performed metagenomic analysis using 16S rRNA amplicon sequencing. Statistical analysis in this study was performed using R (version 3.5.0).

Results: Oral cancer patients showed higher α -diversity compared to the control group, and the β -diversity between the two groups differed significantly. Further, there was a significant difference in the abundance ratio of bacterial genera between the two groups. *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium*, *Alloprevotella*, and *Capnocytophaga* were more abundant in the cancer group compared to the control, whereas *Rothia* and *Haemophilus* were less abundant ($p < 0.01$). A negative correlation in the microbiota composition was confirmed between the operational taxonomic units (OTU) of genus *Rothia* and T-stage progression using the TNM classification method. We performed logistic regression analysis to investigate the impact factor for the oral cancer group, and the result showed that Chao 1 index and sex are statistically significant variables.

Conclusions: In this study, we observed an increased bacterial diversity in oral cancer patients and found distribution changes for some bacteria.

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

US2-3 Profiling of microbiota in baby-drinks and liquid baby formula consumed with an artificial nipple

○Wakui A¹, Sano H¹, Kawachi M¹, Kato R¹, Washio J², Abiko Y², Mayanagi G², Yamaki K², Takahashi N², Sato T¹

¹Div Clin Chem, Dept Med Technol, Niigata Univ Grad Sch Health Sci

²Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

It is suspected that oral bacteria are transferred to the baby-drinks and liquid baby formula through the artificial nipples and multiply in the bottles after feeding. In the present study, in order to understand the influence of bacteria on baby-drinks and liquid baby formula after feeding, the transfer of oral bacteria through artificial nipples and their survival in baby-drinks and liquid baby formula were examined immediately after drinking as well as after storage at 4°C for 3 h.

After obtaining informed consent, 8 and 4 healthy human subjects (19–23 years old) were asked to drink 50 mL of baby-drinks (Bean Stalk[®]) and liquid baby formula (Aptamil[®]) from baby-bottles using artificial nipples, respectively. The inner surface of nipples was wiped with cotton swabs. After suspended and vortexed in a buffer, serial-diluted samples were inoculated onto blood agar plates, and incubated anaerobically at 37°C for 7 days. Samples of the baby-drinks (immediately after drinking) and the liquid baby formula (immediately after drinking and 3 h later) were cultured. Salivary samples from each subject and 6 newborn infants were also cultured. Genomic DNA was extracted from individual colonies, and bacterial species were identified by 16S rRNA gene sequencing.

The mean amounts of bacteria (CFU/mL) were $(4.2 \pm 2.5) \times 10^3$ and $(1.3 \pm 1.7) \times 10^4$ on the inner surface of nipple and in the remaining baby-drinks, respectively. While, bacteria of $(3.2 \pm 3.0) \times 10^4$ and $(3.4 \pm 3.3) \times 10^4$ were recovered from the remaining liquid baby formula immediately after drinking and 3 h later, respectively. *Streptococcus* (52.5 and 39.2%), *Veillonella* (18.3 and 26.6%) and *Actinomyces* (10.4 and 11.7%) were predominant on the inner surface of nipple and in the remaining baby-drinks, respectively. While, *Streptococcus* (41.6 and 39.9%), *Actinomyces* (24.3 and 21.5%) and *Veillonella* (16.2 and 11.0%) were recovered from the remaining liquid baby formula immediately after drinking and 3 h later, respectively. On the other hand, *Streptococcus* (38.9%), *Actinomyces* (17.1%), *Neisseria* (9.1%), *Prevotella* (6.9%), *Rothia* (6.9%) and *Gemella* (5.1%) were predominant in the saliva of adult subjects, and *Streptococcus* (65.2%), *Staphylococcus* (18.5%), *Gemella* (8.2%) and *Rothia* (5.4%) were predominant in the saliva of infant subjects.

From these findings, oral bacteria, e.g., *Streptococcus*, were found to transfer into the baby-drinks and liquid baby formula through artificial nipples, and the bacterial composition in the remaining baby-drinks and liquid baby formula was found to resemble that of human saliva. The bacterial levels were similar between immediately after drinking and when stored at 4°C for 3 h, suggesting that the remaining liquid baby formula may be preserved in a refrigerator for a specified amount of time.

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

US2-4 Spatiotemporal analysis of bacterial surfaces treated with antimicrobials

○Hirayama S¹, Yoshimasu Y^{1,2}, Senpuku H¹, Nakao R¹

¹Dept Bac I, Natl Inst Infect Dis

²Grad Sch Bioresour Sci, Nihon Univ

BIXAM (Olympus, Japan) is a real-time imaging system characterized by being equipped with both a high-speed atomic force microscope and a fluorescence microscope. This system is a valuable research tool for capturing spatiotemporal transitions of the surface structure of living cells without any fixation procedure. Here we have applied this advanced imaging system to observation of bacterial surfaces following treatment with antimicrobials.

Propolis is a resin-like natural product produced by mixing saliva with sap and pollen by bees and is also used in folk medicine for periodontal treatment. In the course of study of the antibacterial activity of propolis against *Porphyromonas gingivalis*, we succeeded in observing by BIXAM in real-time how propolis and propolis-derived antibacterial compounds act on *P. gingivalis* cells. Propolis and these compounds were found to cause the formation of abnormal membrane vesicles on the cell surface after the event of membrane blebbing or membrane rupture.

Polymyxin B (PMB), a polypeptide-based antibacterial agent, is thought to act on the cell membrane of gram-negative bacteria to exhibit a bactericidal effect. Although the influences of PMB on bacterial cells have been observed by electron microscopy so far, real-time analysis of cell morphology and physicochemical properties has not been achieved. In this part of the study, we also attempt to simultaneously capture the changes in both cell morphology and membrane permeability of PMB-treated *Escherichia coli*. We found that PMB triggered formation of membrane vesicle-like structures on the cell surface of *E. coli*, or changed the appearance of the cell surface, which seem to be wrinkled. At the same time, cells stained with the membrane impermeable dye TO-PRO-3 increased fluorescence intensity immediately after PMB addition, indicating that cell membrane permeability was increased.

In conclusion, the advanced technology for real-time imaging not only visualizes the nanometer-scale dynamics of microorganisms, but also captures the processes during the loss of membrane integrity. The technique would be widely applicable to capture the unprecedented dynamics of living bacterial cells at the nanometer scale, including naturally occurring membrane vesicle formation and cell division, as well as others.

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

US2-5 Identification of distinct bacterial species in the salivary microbiota of digestive tract cancer patients

○Kageyama S

Sect Prevent Dent Public Health, Kyushu Univ Grad Sch Dent

It is well known that oral microbiota is related to oral health. The salivary microbiota is constantly swallowed and delivered to the digestive tract. Therefore, these bacteria may be associated with gastrointestinal diseases. This case-control study examined the salivary microbiota in patients with digestive tract cancer (DTC) and evaluated their differential distribution based on the cancer sites. We collected saliva samples from 59 patients with cancer in any part of the digestive tract (tongue/pharynx, esophagus, stomach, and large intestine) and from 118 age- and sex-matched control subjects. There was no significant difference in periodontal status between DTC patients and control subjects ($P=0.72$). We examined the bacterial diversity and composition in saliva by 16S ribosomal RNA gene sequencing. Salivary bacterial diversity, the number of observed operational taxonomic units (OTUs), in DTC patients was significantly higher than that in control subjects ($P=0.02$). Eleven differentially abundant OTUs in DTC patients were identified using the linear discriminant analysis effect size (LEfSe) method. Based on the cancer sites, the diversity of salivary bacteria was especially higher in tongue/pharyngeal or esophageal cancer patients than in control subjects ($P<0.01$). Among the 11 differentially abundant OTUs in DTC patients, an OTU corresponding to *Porphyromonas gingivalis* was more abundant in the saliva of all groups of DTC patients compared to that in control subjects, and an OTU corresponding to *Corynebacterium* species was more abundant in all groups other than gastric cancer patients ($P<0.01$). In addition, the relative abundances of OTUs corresponding to *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus parasanguinis* II, and *Neisseria* species were significantly higher in tongue/pharyngeal cancer patients compared to their abundances in control subjects ($P<0.01$). The relative abundance of an OTU corresponding to the *Neisseria* species was also significantly higher in gastric cancer patients and that of an OTU corresponding to *Actinomyces odontolyticus* was significantly higher in colorectal cancer patients ($P<0.01$). These results suggest that the salivary microbiota might be associated with various digestive tract cancers. Understanding the association can help in establishing a novel concept for cancer prediction or diagnosis based on bacterial composition.

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

US3-1 放射線照射後に生じる外分泌腺の機能障害に関する検討

○内田 仁司

Cent for Oral Biol, Univ of Rochester

現在、頭頸部腫瘍の患者に対して放射線療法、化学療法および外科手術による複合的な治療が行われている。放射線療法は正常な組織にも影響をもたらす、しばしば副作用を生じる。頻度の高い副作用の一つとして口腔乾燥症が挙げられる。しかしながら、その治療は対症療法にとどまっている。そこで、根本的な治療法を見出すために我々は1) 腫瘍治療に伴う腺房や導管の喪失によって機能が低下した唾液腺の再生医療および2) 治療前、治療中における口腔乾燥症の予防を目的とした唾液腺の保護に焦点を当てて研究を行っている。マウスを用いた本研究では、後者を対象として放射線防護法を確立することを目指している。これまでに放射線照射に伴う組織機能障害の発生機序について、「照射後数日以内の短期間に生じる機能変化」と「照射から数ヶ月後の機能障害」に関する検証を行った。放射線照射2日以内の短期効果として、唾液分泌量の低下 (in vivo)、細胞内カルシウムイオン動態の異常および遺伝子発現の変化 (in vitro) を検出した。照射から3ヶ月後の唾液腺は腺房と導管が広範に消失する一方で、一部の生き残った腺房細胞によって形成されたクラスターが散在することを見出した。細胞系譜の追跡から、これらが単一の細胞の self-duplication によって生じること、これらのクラスターにはイオンチャネルなどの機能分子が発現していることを明らかにした。本シンポジウムでは、これまでに得られた知見を紹介するとともに、新規の放射線防護法の確立に向けた課題と今後の展望について述べる予定である。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Effects of irradiation in salivary gland

○Uchida H

Cent for Oral Biol, Univ of Rochester

500,000~600,000 new patients of head and neck cancer are diagnosed annually in the world and treated with a combination of radiation, chemotherapy and surgery. Radiation therapy frequently causes permanent loss of the secretory acinar cells and leads to significant reductions in salivary flow, known as xerostomia. However, the treatments available are only temporary and palliative. Therefore, we have focused on two complementary approaches to address this significant problem: 1) regenerative strategies to restore salivary gland function in head and neck cancer survivors and 2) improved protection strategies to prevent xerostomia in newly diagnosed patients. Rational design of restorative therapies requires fundamental knowledge of how irradiation leads to hypofunction in the tissue. We have investigated effects of irradiation at two different stages in mouse. We examined the short term effects within 2-days and the long term effects after 3 months. We demonstrate that salivary glands show hyposalivation, abnormal $[Ca^{2+}]_i$ and changes in gene expression at 2-days after irradiation. At 3 months after irradiation, we find acinar cell clusters that express functional proteins. In this symposium, I'd like to discuss our recent findings and introduce future directions of our research.

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

US3-2 唾液腺障害モデルから探索する再生医療への可能性

○皆木 瞳^{1,2}, 宇佐美 悠³, 井階 一樹¹, 阪井 丘芳¹

¹阪大 院歯 顎治, ²日本学術振興会, ³阪大 院歯 口腔病理

再生医療を実現するためには発生生物学の研究とともに再生生物学を進展させることが重要であるといわれている。近年の再生医療の躍進は目覚ましいものがあるが、唾液腺の分野での再生医療は未だ困難であり、口腔乾燥症に対する治療法は対症療法が主流となっている現状がある。唾液腺の再生医療が難航している原因はいくつか考えられるが、その原因の一つとして、唾液腺発生における報告は数多くあるものの、組織障害後の再生に関する解析が少ないことが挙げられると考えられる。

そこで本研究では、胎仔唾液腺と損傷唾液腺を用いて、唾液腺の発生過程が再生過程を同一であるのかもしくは違いがあるのかという点に着目し検討を行った。損傷唾液腺としては導管結紮モデルマウスを作製し、発生過程である胎仔唾液腺との比較検討を行った。形態学的解析では、唾液腺を構成する因子である、腺房、導管、筋上皮、神経をそれぞれ、Aaquaporin5, Cytokeratin7 (CK7), α -Smooth muscle actin, Tubulin beta 3 のマーカーを用いて時系列に沿って免疫組織染色を行った。その結果、再生過程での導管と神経は発生過程と同様の発現パターンを示していることが分かった。しかしながら、その他のマーカーはそれぞれ異なる発現を示すことが示された。以上より唾液腺における発生過程は一概に再生過程をそのまま模倣しているわけではないことが示された。損傷唾液腺の再生医療を実現するためには、さらなる再生機構の解析が必要であると考えている。また現在、放射線照射を用いた唾液腺障害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】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Regeneration of salivary gland following duct ligation and development of embryonic salivary gland

○Ono Minagi H^{1,2}, Usami Y³, Ikai K³, Sakai T¹

¹Osaka Univ Grad Sch Dent/Dept Oral-Facial Disorder, ²JSPS Res Fellow, ³Osaka Univ Grad Sch Dent/Dept Oral Pathol

Regeneration capabilities are found in most or all animals and organs. Whether regeneration is part of the development of an animal or a distinct phenomenon independent of development is a debatable question. Consistent with the need to develop regenerative strategies, there has been increasing focus on the identification of stem cell populations and their regulators for the repair or regeneration of injured salivary tissue.

In this study, we revealed the difference between development and regeneration of salivary gland by using duct ligation model. Here we perform a comparative analysis of regeneration versus development processes in salivary gland in order to determine to what extent these processes are similar or distinct. We performed morphological analysis by comparing regeneration and development of salivary gland. To reveal the difference, we use some markers; CK7, AQP5, SMA, TUBB3 and CK5. Morphological analysis with CK7 and TUBB3 showed similar between development and regeneration. But, other salivary markers were different expression patterns. The expression patterns were varying among each markers. The expression patterns of salivary gland marker showed difference between regeneration and development.

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

US3-3 傷害を受けた唾液腺の代償作用を担う因子の検索

○横山 愛, 加藤 治, 吉垣 純子

日大松戸歯 生理

口腔内に分泌される唾液のほとんどが左右対称に位置する三対の大唾液腺から分泌されるものである。腎臓が代表例としてよく挙げられるが、左右一対の臓器の片側またはある臓器の一部が機能不全に陥った時、反対側または残りの臓器が機能を代償する現象がある。唾液腺もまた、代償作用をもつ臓器の一つである。唾液分泌量が減少する原因は放射線治療や自己免疫疾患、服用薬剤、加齢など多岐にわたり、明らかに人々の生活の質を低下させる。我々は、分泌機能が低下した唾液腺の分泌機能を回復することを目的として研究を行っている。

唾液腺の排泄導管結紮法は唾液腺傷害モデルとしてよく用いられる手法である。また、唾液腺は傷害を受けると未分化な状態に変化することが報告されている。これらのことから我々は最初に、片側唾液腺傷害モデルマウスを作製し唾液腺前駆細胞マーカーの検索を行った。その中で、細胞増殖マーカーの発現量がコントロールマウスと比較して傷害側と非傷害側の両側唾液腺で増加することを見出した。この結果から、非傷害側の唾液腺の代償作用には傷害側と非傷害側の唾液腺間になんらかのコミュニケーションが存在し、連絡を担う因子が存在するのではないかと予測している。非傷害側の唾液腺が分泌機能を亢進するメカニズムとしては、①傷害側の唾液腺から分泌を亢進させるシグナル物質が分泌され、血液を介して非傷害側の唾液腺に作用する経路、②唾液分泌量の減少が刺激となり、神経を介して中枢へ伝わり非傷害側の分泌機能を亢進する経路が考えられる。我々はまず、血液を介した経路に着目することとした。現在、傷害側と非傷害側の唾液腺を用いた網羅的遺伝子解析を行い、傷害側で増加する遺伝子に注目し、唾液腺機能を亢進する因子の検索を進めている。今回のシンポジウムでは、実験の方法を含め我々がこれまでに得た唾液腺の機能回復に関する研究で得たデータをまとめて報告する。

【利益相反】 利益相反はありません。

Mechanism for compensation of salivary secretion function in response to duct ligation

○Yokoyama M, Katsumata-Kato O, Fujita-Yoshigaki J

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

The major salivary glands are distributed symmetrically in head and neck area. Kidney is well known as a compensating organ. Salivary gland is also one of the organs with compensatory effects. The causes of decreased salivation are radiation therapy, autoimmune diseases, medication, aging, etc. Our aim is functional recovery of the salivary gland with decreased secretory function.

Duct ligation of salivary gland is a commonly used technique as a salivary gland injury model. In addition, it has been reported that salivary gland changes into an undifferentiated cell state when it is injured. Consequently, we performed duct ligation of unilateral parotid gland. We found that expression level of cell proliferation marker was increased in injured and non-injured sides of the salivary glands in comparison with control mice. This result supports that some kinds of signal transduction exist in parotid gland. We predict some humoral factors from injured side act to non-injured side through the blood. We performed microarray analysis in injured and non-injured sides of parotid glands to search factors that enhance salivary secretion function in the non-injured side.

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

US3-4 オルガンバス実験系を用いたラット膵の内外分泌の同時評価

○森田亜州華¹, 大内 基司¹, 佐藤慶太郎², 藤田 朋恵¹

¹獨協医大 医 薬理, ²朝日大 歯 薬理

膵臓にはアミラーゼなどの消化酵素を分泌する外分泌腺と、インスリンなどのホルモンを分泌する内分泌腺が存在する。インスリンの分泌及び作用の低下により起こる糖尿病の根治療法は未だ確立されておらず、新たなインスリン分泌誘導物質の検索は糖尿病治療においても重要である。インスリン分泌の関連因子を効率よく検索するため、我々はマグヌス管を用いてラット膵から分泌されるインスリンを定量する実験系を構築した。マグヌス管にラット摘出膵を吊りし、20分間隔で栄養液を回収した。得られた栄養液中のインスリンとアミラーゼを定量し、分泌の経時的変化を評価した。無刺激時では時間経過と共にインスリン分泌量は低下し、アミラーゼ分泌量は増加したが、インスリン分泌の誘導ホルモンを添加したところインスリン分泌量は有意に増加した。一方、アミラーゼ分泌量に変化は認めなかった。この結果より、本実験系がインスリン分泌誘導物質の検索に有効である可能性が示唆された。しかし、前述のように本実験系では無刺激時においてインスリン分泌量が時間経過と共に低下したことから、インスリン分泌をより長く維持できる実験条件を探索した。外分泌腺には種々のトリプシン活性を持ったプロテアーゼが存在することが知られている。これらプロテアーゼの活性を防ぐ目的でトリプシンインヒビター (TI) を栄養液中に添加し、インスリン及びアミラーゼ分泌を評価した。TIによりインスリン分泌量の経時的低下はなくなったが、アミラーゼ分泌量に変化は認めなかった。この結果から、オルガンバス実験系を用いたインスリン分泌評価に TI 添加が有効であることが示された。

本発表は、オルガンバス実験系を用いた分泌刺激によるインスリン及びアミラーゼ分泌の同時測定データを基に、膵内外分泌の関連について報告する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Simultaneous assay system for pancreatic endocrine and exocrine function using organ bath technique

○Morita A¹, Ouchi M¹, Satoh K², Fujita T¹

¹Dept Pharmacol, Dokkyo Med Univ Sch Med, ²Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent

Hyperglycemia due to inappropriate or diminished insulin secretion is the condition of diabetes mellitus. A new pharmacotherapeutics for diabetes mellitus which induce insulin secretion is awaiting. To search for substances inducing insulin secretion easily, we developed an experimental method to reproduce insulin secretion from isolated rat pancreas preparations using an organ bath. In our previous methods, insulin secretion decreased and amylase secretion increased over time in non-stimulated tissue. Adding glucagon like-peptide-1, an intestinal hormone, to this method induced insulin secretion. In contrast, there was no effect on amylase secretion. We reported that the method had high experimental utility for observing insulin and amylase secretions simultaneously (Exp Anim, 2018). In this experiment, we investigated how insulin does not reduce over time. To assess the effect of trypsin on insulin secretion using organ bath technique, trypsin inhibitor (TI) was added to the medium. In the tissue with TI, the decrease of insulin outflow was almost abolished and the levels of amylase were unchanged compared to the non-stimulated tissue. Application of TI to the organ bath technique had the utility to search for substances inducing insulin secretion.

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

US4-1 オーバービュー：象牙芽細胞と骨芽細胞の分化の違いを考える

○大島 勇人

新潟大 院医歯 硬組織形態

象牙質は成分から見ると骨と類似しているが、骨はリモデリングされるのに対し、象牙質は一度造られるとリモデリングされない。さらに、骨の場合は形成細胞である骨芽細胞がみずから造った骨に埋め込まれ骨細胞となるのに対し、象牙質の場合は象牙芽細胞がその細胞突起を象牙質に埋め込むだけで、細胞の本体は常に象牙質の外（歯髄中）にある。このような象牙質と骨との違いについて、系統発生的に両者の由来を考えてみると、骨は体の支持組織として進化したのに対し、象牙質は感覚器として進化した硬組織であると考えられる。歯の再植/移植後には、歯髄内に象牙質が形成される場合と歯髄が骨組織に置換する場合がある。歯の損傷後の歯髄内に象牙芽細胞分化と骨芽細胞分化のどちらかが起こるのかを規定しているのは、歯髄幹細胞/前駆細胞を含む歯髄固有細胞の生存と歯髄内へ遊走する細胞の種類である。歯髄幹細胞が死滅し、骨や歯を吸収する破骨細胞系細胞が歯髄腔内に出現すると、骨芽細胞分化が起こるのに対し、歯髄幹細胞の生存と歯髄・象牙質界面における樹状細胞の出現は象牙芽細胞様細胞分化を誘導する。また、insulin-like growth factor binding protein 5 (IGFBP5) が歯の発生と歯の損傷後の歯髄治癒過程における歯髄幹細胞の生存とアポトーシスに重要な調節因子として働いていることが示唆されている。本シンポジウムでは、象牙芽細胞、骨芽細胞研究の第一線の先生方をお招きし、象牙芽細胞と骨芽細胞の異同を細胞分化機構、石灰化機構の側面から捉えて、両者の違いについて活発に議論することを目的としている。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Overview: differences between odontoblast and osteoblast differentiation to be considered

○Ohshima H

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

Although dentin is similar to bone regarding the components of matrices, dentin is different from bone in terms of whether it is remodeled or not and the mode of hard tissue formation. It could be thought from the evolutionary point of view that bone evolves as a supporting tissue whereas dentin does as a sensory organ. At least two types of healing patterns, dentin or bone, are observed in the pulp cavity after tooth replantation. The determinant factors to induce odontoblasts or osteoblasts are the survival of dental pulp stem cells (DPSCs) or progenitors and the types of migrating cells. The appearance of osteoclasts following the death of DPSCs elicits the osteoblast differentiation, whereas the survival of DPSCs followed by the arrangement of dendritic cells along the pulp-dentin border induces the odontoblast-like cell differentiation. Insulin-like growth factor binding protein 5 (IGFBP5) play a pivotal role in regulating the survival and apoptosis of DPSCs during both tooth development and pulpal healing following tooth injury. The current symposium focuses on the differences between odontoblasts and osteoblasts to be considered from the view point of cell differentiation and mineralization.

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

US4-2 歯髄細胞から象牙芽細胞分化に及ぼすミダゾラムのドラッグ・リポジショニング効能

○唐木田丈夫, 山本 竜司, 齊藤 まり, 千葉理紗子, 山越 康雄

鶴大 歯 分子生化

歯髄には線維芽細胞や象牙芽細胞に分化する未分化間葉系細胞が存在し、骨形成タンパク質 (BMP) やトランスフォーミング成長因子ベータ (TGF- β) などの生理活性物質が細胞分化に影響を及ぼすことが報告されている。我々は歯科治療において主に麻酔導入薬・鎮静薬として用いられているミダゾラム (MDZ) に注目し、ブタ切歯歯髄から調製した不死化細胞 (PPU7 細胞) に MDZ 単独, MDZ と BMP2 の併用, MDZ と TGF- β 1 の併用の 3 つの投与群を通常培地および石灰化培地を用いて培養し、細胞分化能についてはアルカリホスファターゼ (ALP) 活性から、石灰化誘導能については石灰化沈着物の Alizarin Red S 染色および Von Kossa 染色とカルシウム定量から比較した。さらに各種細胞分化マーカー遺伝子に対する定量 PCR 解析と石灰化沈着物中のタンパク質の電気泳動からどの細胞に分化傾向があるかを検討した。これまでに PPU7 細胞に対する ALP 活性は MDZ と BMP2 および MDZ と TGF- β 1 の併用群より、MDZ 単独群で顕著であることを明らかにした。石灰化誘導後の石灰化沈着物中のカルシウム量も MDZ 単独群で顕著に増加しており、X 線回折により石灰化沈着物がリン酸オクタカルシウム様またはヒドロキシアパタイト様であることを見出した。また石灰化沈着物中のタンパク質には象牙質リントタンパク質が同定された。さらに MDZ 単独で 7 日間培養した PPU7 細胞の遺伝子発現は、象牙芽細胞の遺伝子マーカーが、骨芽細胞および軟骨細胞の遺伝子マーカーより優位に上昇した。本シンポジウムでは、上記 PPU7 細胞に対する MDZ の象牙芽細胞分化促進に関するデータを示しながら、近年創薬戦略として進められているドラッグ・リポジショニングにおける MDZ の効用について討論したいと考えている。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Drug repositioning efficacy of midazolam on odontoblast differentiation from dental pulp cells

○Karakida T, Yamamoto R, Saito MM, Chiba R, Yamakoshi Y

Div Biochem and Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

Midazolam (MDZ) is a short-acting hypnotic-sedative drug with amnestic and anxiolytic properties. Our objective is to investigate the potential for drug repositioning of MDZ toward dentin regeneration. MDZ was added to porcine dental pulp-derived cell line (PPU7 cells) with or without BMP2 or TGF- β 1 and cultured with a standard or a calcification medium. The differentiation potency of PPU7 cells was investigated by alkaline phosphatase (ALP) activity and qPCR analysis for differentiation marker genes in PPU7 cells, and measurement of calcium content and protein characterization in calcified precipitates. MDZ only increased ALP activity in PPU7 cells and the calcium content in calcified precipitates. When BMP2 or TGF- β 1 was used in combination with MDZ, both ALP activity and calcium content were decreased. Dentin phosphoprotein, dentin specific protein, was detected in calcified precipitates. MDZ enhanced mRNA levels of odontoblastic marker genes (dentin sialophosphoprotein (*Dspp*) and matrix metalloproteinase 2 (*Mmp2*)) in PPU7 cells, but not osteoblastic (osteocalcin (*OC*) and *Runx2*) and chondrocytic (type II collagen (*Col II*) and aggrecan (*ACAN*)) marker genes. MDZ only is more effective on the differentiation potency of PPU7 cells than the combination with BMP2 or TGF- β 1 and MDZ facilitates odontoblastic differentiation of PPU7 cells.

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

US4-3 間葉系幹細胞が司る硬組織維持機構の解析

○溝口 利英

東歯大 口腔科学研究セ

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。

次に我々は、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* 7:4928, 2017)。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(*J Bone Miner Res* 2019, in press)。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。

さらに本講演では、最近我々が取り組んでいる遺伝子改変マウスを用いた解析手法の一つとして、歯髄の間葉系細胞による硬組織再生の調節機構についてもご紹介したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Maintenance of hard tissue homeostasis by mesenchymal stem cells

○Mizoguchi T

Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll

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

Previously, we tried to identify 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)⁺ cells in the neonatal stage contributed to BM-MSC. Osx⁺ cells-derived BM-MSC were localized adjacent to blood vessels, and specifically marked by Leptin receptors (LepR). The LepR⁺ cells differentiate into osteoblasts and adipocytes with growth. Although there is no contribution of LepR⁺ cells on chondrocytes in developmental stage, the LepR⁺ cells-derived chondrocytes were observed in bone fractured callus during healing process.

Furthermore, we examined effects of parathyroid hormone (PTH) (1-34), a medicine for treatment of osteoporosis, on lineage differentiation of LepR⁺ cells. The contribution of LepR⁺ cells into osteoblasts was accelerated in response to PTH (1-34) treatment (*Sci Rep* 7:4928, 2017). Interestingly, the PTH(1-34) decreased BM adipocytes, indicating that PTH(1-34) treatment recover osteoporotic bone tissue by skewing the lineage differentiation of LepR⁺ cells toward osteoblasts from adipocytes (*J Bone Miner Res* 2019, in press).

Based on our recent findings obtained using genetically modified mice, I would like to also touch upon about the in vivo regulation of odontoblastogenesis and dentinogenesis activation in this lecture.

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

US4-4 骨細胞分化のバイオイメージング

○長谷川智香

北大 院歯 硬組織

骨細胞の分化は、骨芽細胞が周囲の骨基質に埋め込まれることによって生じ、その過程で細胞極性や ALP や ENPP1 といった酵素・膜輸送体の局在や活性がダイナミックに変化する。また、骨細胞は、周囲の骨細胞や骨芽細胞と細胞突起を介した細胞性ネットワークを形成しており、成熟骨に存在する骨細胞は、とくに幾何学的に規則的配列を示す。これらのことから、時空的に骨細胞の分化を制御する何らかのメカニズムが存在すると考えられる。我々は、これまでに、骨細胞の分化過程における様々な因子の局在・発現変化や微細構造について解析を進めてきた。例えば、骨基質に埋め込まれつつある骨芽細胞や骨細胞に発現する podoplanin は、細胞突起の形成、細胞極性の獲得や移動に関与することが示唆されており、細胞内の EMR family のリン酸化を介して細胞内アクチンフィラメントの再構築を誘導することが知られている。我々の検索では、骨リモデリング部位である骨幹端において、いくつかの骨芽細胞や骨細胞に podoplanin が局在したのに対して、モデリング部位である皮質骨骨内膜側には、podoplanin 陽性骨芽細胞が一定間隔で配列していたことから、podoplanin 陽性骨芽細胞および骨細胞の規則的配列性に関連することが推察された。本シンポジウムでは、骨細胞の分化過程における各種の酵素・膜輸送体および podoplanin などの局在変化について、様々な観察機器で捉えたイメージング像をご紹介します。

【利益相反】 筆者は利益相反がないことを宣言する。

Bioimaging of osteocytic differentiation

○Hasegawa T

Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

When differentiating into osteocytes, osteoblasts dynamically change the cell morphology and function including cell polarity, and the localization and activities of the enzymes and membrane transporters such as ALP and ENPP1, which are involved in phosphate ion supply. Osteocytes communicate with neighboring osteocytes and osteoblasts on the bone surface through their cytoplasmic processes, building functional osteocytic network. In mature bone, the osteocytes and their cytoplasmic processes are geometrically well-arranged; There must be cellular mechanism enabling the orderly distribution of osteocytes. We have focused on podoplanin during the transition from osteoblasts into osteocytes, since podoplanin signaling is mediated by phosphorylation of EMR family prior to the rearrangement of actin filaments. In metaphyseal region – bone remodeling site, podoplanin appeared on some osteoblasts about to differentiate into osteocytes and osteocytes just embedded into bone matrix. In the endosteal surface of cortical bone – modeling site, podoplanin-positive osteoblasts were localized with a certain interval. In this symposium, I will show our recent histochemical findings on cellular transitioning from osteoblasts into osteocytes.

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

US5-1 小学生児童の味覚検査

○井出 良治, 佐伯 周子, 橋爪 那奈, 今井 敏夫

日歯大 生命歯 生理

【目的】児童の健康増進に「食育」は必須である。その中で、児童の味覚の感受性を把握することは、食育の前進、健康増進教育に役立つと考える。そこで今回我々は市川市ヘルシースクール事業の一環として市川市歯科医師会協力の下に行われた味覚検査の結果の一部について報告する。

【方法】平成 24~30 年度に市川市立小学校児童を対象として甘味と塩味の 2 種類の味質を全口腔法で検査した。甘味（シヨ糖水）と塩味（食塩水）は各々 3 段階の濃度を用意し、甘味、塩味の順で検査を実施した。各児童には、用紙に印刷された回答（水と同じ、水とちがう、あまい味、しょっぱい味）から 1 つを自由に選択させた。更にそのうち一部児童に対しては、味の印象を 3 つの選択肢（おいしかった、まずかった、どちらでもない）から 1 つ、先の回答に加えて選択させた。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。

【結論】最大濃度で正しい味質を回答した児童の甘味の認知閾値（mM）は男女、男子そして女子が各々 26.2 ± 10.2 （1383 名）、 26.4 ± 10.3 （691 名）、 26.9 ± 10.2 （692 名）。同様に、塩味の認知閾値（mM）は各々 16.2 ± 7.1 （1448 名）、 16.1 ± 7.1 （724 名）、 16.3 ± 7.1 （724 名）だった。更に一部の味の印象を選択させた児童で最大濃度を正答した児童（正答群）は 31 名、誤答した児童（誤答群）は 14 名であった。その中で正答群ではシヨ糖水を 48%「おいしい」と選択したのに対し誤答群では 7%が「おいしい」、86%が「まずい」と回答した。

【結論】今回得られた甘味と塩味の認知閾値は、過去に国内外で報告された結果と類似した。更に味の嗜好のアンケート結果より学童期における味の認知は嗜好が反映される可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反はありません。

Gustatory test in schoolchildren

○Ide R, Saiki C, Hashizume N, Imai T

Dept Physiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

<Aims>We examined sweet and salty taste thresholds of public elementary schoolchildren by using whole mouth gustatory test promoted by Ichikawa City, Ciba prefecture.

<Methods>The children (9 to 12-year-old, n=1661; male 849 and female 812) were served sucrose and NaCl solutions with water in the following steps; sucrose (4.6, 18.3, 36.5 mM), intermission, NaCl (3.2, 13.0, 26.0 mM), and asked to choose at each step one among four options; water, not water, sweet and salty.

<Results>The thresholds (mean, mM) to recognize sweet and salty tastes were 26.2 (total), 26.4 (male), and 26.9 (female) for sucrose solution and 16.2 (total), 16.1 (male) and 16.3 (female) for NaCl solution. An additional examination on the taste impressions (good, bad and neither) (n=52) showed that 86% of the children who could not recognize sucrose solutions as sweet (n=21) chose "it tastes bad".

<Conclusion>Our results suggest that thresholds for sweet and salty taste recognition were similar to those obtained in earlier studies and that in children their choice for the gustatory test could be, at least in part, reflects their taste preference.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interests.

US5-2 モデル動物を用いた味覚障害発症機構の解明

○佐藤 元, 尹 東旭, 豊田 博紀, 片桐 綾乃, 加藤 隆史

阪大 院歯 口腔生理

味覚障害は、末梢や中枢の味覚伝導路に対する直接的な傷害により生じるだけでなく、薬剤や他の疾患によっても二次的に生じる。薬剤性や疾患性味覚障害の発生頻度は約 20%であり、味覚障害全体の約 4 割を占める。しかし、その病態は不明な点が多く、病態解明には二次的に味覚障害を呈するモデル動物の作製が必須である。我々は、これまで抗がん剤による味覚障害と、パーキンソン病の味覚障害のモデル動物を作製し研究を行ってきた。本シンポジウムでは、2つのモデル動物が二次性味覚障害の発症機構の解明に有用である可能性について概説したい。

抗がん剤である Hedgehog シグナル伝達阻害薬 (LDE225) の副作用として味覚障害が生じ、その味覚障害は投薬終了後数週間で回復する。二瓶法を用いた味覚嗜好性テストでは LDE225 を経口投与したラットにおける味覚嗜好性が完全に消失しなかった。しかし、LDE225 経口投与ラットの鼓索神経からの神経応答を調べると、5 基本味に対する鼓索神経応答が大きく低下した。また、舌の味蕾の構造を組織学的に観察すると、味蕾が消失していた。したがって、LDE225 による味覚障害は、味蕾のターンオーバーが阻害された結果生じる末梢性障害である可能性を明らかにした。

パーキンソン病 (PD) 患者では味覚障害が生じることが報告されている。そこで、ロテノンにマウス鼻腔内に投与した PD モデル動物で味覚障害が生じるか検討した。ブリーフアクセステストを用いた味覚嗜好性テストではロテノン鼻腔内投与マウスにおける苦味感受性が低下した。また、ロテノン鼻腔内投与マウスでは孤束核吻側部のドパミン細胞や不全顆粒性島皮質のドパミン神経線維密度が減少した。したがって、ロテノン投与 PD モデルマウスは、PD 患者の味覚障害の動物モデルとして有用である可能性があることを見出した。

【利益相反】 著者らは利益相反がないことを宣言します。

The contribution of animal models for the study of taste disorders

○Sato H, Yin DX, Toyoda H, Katagiri A, Kato T

Dept Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Taste disorders associated with drug therapy and systemic diseases are often overlooked by patients or their medical attendants and account for about 40% of the causes of taste disorders. However, the underlying pathophysiology of their taste disorders remains poorly understood. Animal models are the best tools to study the complicated pathogenesis of taste disorders. We are investigating these pathogenesis using two animal models. One is the drug-induced animal model gavaged with Hedgehog pathway-inhibitor (HPI) drug (LDE225). Striking taste disturbances are reported in cancer patients treated with HPI drugs. To understand the biology behind these adverse effects, we studied the consequences of HPI on taste function in rats. The other is the animal model of Parkinson's disease (PD) caused by intranasal administration of rotenone. Taste impairment is the most prevalent prodromal symptom among PD patients. To clarify these causes, we studied the effects of rotenone on taste function in mice. In this symposium, we will introduce the functional and histological changes in these animal models and outline the utility of these animal models for the study of the taste disorders.

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

US5-3 歯と体内時計のバイオロジー ～成長線の形成周期は 24 時間？～

○小野龍太郎^{1,2}, 小池 宣也¹, 井之川 仁¹, 土谷 佳樹¹, 梅村 康浩¹, 山本 俊郎², 金村 成智², 八木田和弘¹

¹京府医大 院医 統合生理, ²京府医大 院医 歯科口腔科学

体内時計は、生体機能に約 24 時間の周期性を与える内因性の自律振動体であり、バクテリアから哺乳類に至るまで、地球上のほとんどの生物が備えている。脊椎動物の象牙質では、振動体のリズムを形態として反映した“成長線”が観察される。これまで、ラットやウサギなどの切歯(前歯)を用いた研究により、象牙質の形成は“約 24 時間周期”の概日時計に支配されると考えられてきた。一方、臼歯の成長線形成の周期性については報告がない。齧歯類の切歯は、生涯にわたり伸長を続けるのに対して、臼歯は歯冠形成後に発育が停止する点でヒトの歯と類似性を示す。それゆえ、マウス臼歯はヒトの歯の発育に関わる分子制御機構を理解する上で、最適なモデルと考えられる。本研究では、テトラサイクリンを発育マーカーとして用いた硬組織内時刻描記法をマウスに応用し、時間生物学の観点から、象牙質の成長線形成と体内時計の関係性について検討を行った。12 時間サイクルの明暗条件下で飼育した野生型マウスの切歯では、成長線が約 24 時間毎に 1 本ずつ形成されており、これはラットでの報告と一致するものであった。一方、マウス臼歯の成長線は約 8 時間周期で形成されており、さらにこの周期性は恒暗条件下で飼育した野生型マウスおよび時計遺伝子 *Bmal1* ノックアウトマウスでも維持されていた。以上の結果、マウス臼歯の象牙質における成長線は、約 8 時間周期のウルトラディアンリズム(24 時間よりも短いリズム)を示し、時計遺伝子による概日リズムとは独立した別の分子機構によって制御されている可能性が示唆された。今回得られた知見は、「象牙質形成は概日リズムで制御される」とした従来の定説について一部再考の必要性を提起するものであり、今後は動物種や歯種による発育様式の違いとの関連性について詳細に検討することで、歯の成長メカニズムのより深い理解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。

A new insight of tooth growth ~Incremental growth lines in mouse molar dentin represent 8-hour ultradian rhythm~

○Ono R^{1,2}, Koike N¹, Inokawa H¹, Tsuchiya Y¹, Umemura Y¹, Yamamoto T², Kanamura N², Yagita K¹

¹Kyoto Pref Univ Med, Dept Physiol and Biosci, ²Kyoto Pref Univ Med, Dept Dent Med

Incremental growth lines were found in human dentin more than 100 years ago, and also observed in several vertebrates. Previous studies suggest that dentinogenesis in rodent incisors is controlled by the 24-hour circadian clock mechanisms. Incisors continue to grow throughout the rodent's lifespan. In contrast, rodent molars stop growing after crown formation, similar to human teeth. This similarity suggests that the mouse molar is an excellent model to understand the molecular mechanisms underlying growth of human teeth. However, to date, not much is known about the rhythmic dentinogenesis in mouse molars. Here, we analyzed the incremental growth lines in mouse molar dentin and determined the periodicity by chronological labeling using tetracycline as a growth marker. We demonstrated that the incremental growth lines in mouse molar dentin were generated at approximately 8-hour intervals. Moreover, the 8-hour increments persisted in wild-type and *Bmal1*-deficient mice housed in constant darkness, where *Bmal1*-deficient mice become behaviorally arrhythmic. These results for the first time revealed that the rhythmic dentinogenesis in mouse molar underlie the self-sustained ultradian rhythms, and the circadian clock does not seem to be involved in this process. Our findings will provide new insight into the mechanisms involved in tooth growth.

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

US5-4 象牙芽細胞におけるアルカリ刺激受容機構

○木村 麻記, 東川明日香, 戸田はる菜, 大山 定男, 大房 航, 澁川 義幸
東歯大 生理

水酸化カルシウム製剤や mineral trioxide aggregate (MTA) は第 3 象牙質形成や象牙質橋形成を目的として使用され, 投与時に強いアルカリ性環境を作り出す歯内療法薬である。しかしながら, それらの薬剤がなぜ象牙質を形成するのか, それら薬剤の象牙芽細胞に対する作用は不明である。そこで, 高 pH を示す薬剤による象牙質形成メカニズムを明らかにするため, 我々は象牙芽細胞におけるアルカリ刺激受容機構を検討してきた。その結果, 象牙芽細胞にアルカリ感受性タンパク質である transient receptor potential ankyrin subfamily member 1 (TRPA1) チャンネルが発現しており, 象牙芽細胞へのアルカリ刺激は TRPA1 チャンネルで受容されることを明らかにした。加えて, そのアルカリ刺激は store operated Ca^{2+} (SOC) チャンネルを介したストア依存性 Ca^{2+} 流入を促進すること, SOC チャンネルは Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} (CRAC) チャンネルであることを明らかにした。したがって, 水酸化カルシウム製剤や MTA による象牙質へのアルカリ刺激は象牙芽細胞の TRPA1 チャンネル活性化と CRAC チャンネルの活性化促進を通して反応象牙質形成に重要な役割を果たすことが示唆された。本シンポジウムではこれらについて報告したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

High pH-sensitive intracellular Ca^{2+} signaling pathway in odontoblasts

○Kimura M, Higashikawa A, Toda H, Ohyama S, Ofusa W, Shibukawa Y
Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

Calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate, which produce high pH environment in the dental pulp, are commonly used as dental materials to regenerate tertiary dentin, such as reparative/reactionary dentin. However, the detailed mechanisms how odontoblasts are capable to detect extracellular high pH environment and to create dentin following high pH stimuli remain unclear. We, thus, examined high pH-sensitive intracellular Ca^{2+} signaling pathway in odontoblasts. High pH stimuli to odontoblasts evoked Ca^{2+} influx and promote mineralization via transient receptor potential ankyrin subfamily member 1 (TRPA1) channel activation. In addition, the stimuli also modulated Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} channel activation, resulting in enhancement of Ca^{2+} influx. These results indicate that high pH-sensitive Ca^{2+} signaling pathways in odontoblasts involve in tertiary dentin formation following application of high pH dental materials on the dentin surface.

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

US5-5 口腔内ストレスは心房組織のリモデリングを誘導して心房細動のリスクを高める

○吹田 憲治¹, 八木澤由佳², 早川 佳男³, 松尾 一郎⁴, 川村 直也⁴, 伊藤 愛子²,
石川美紗緒⁵, 梅木 大輔², 大貫 芳樹¹, 奥村 敏¹

¹鶴大 歯 生理, ²鶴大 歯 矯正, ³鶴大 歯 麻酔, ⁴鶴大 歯 歯周病, ⁵鶴大 歯 口腔解剖

心房細動 (Atrial fibrillation: AF) は臨床で最も問題となる不整脈の一種である。近年, AF に関連した死亡率は世界的に増加傾向を示しており, 1990 年から 2010 年までの 20 年間で約 2 倍以上に増加したと報告されている。さらに, AF は高齢者に好発するため, 高齢化をむかえた社会において今後の患者数増加が強く推定されている。これらのことは, 従来の AF 治療法である薬物療法, 非薬物療法ならびに抗血栓療法は, 深刻な AF 患者の増加に対して十分な有効性を発揮していないことを示唆する。そのため, 新規かつ有効な AF の予防および治療法を開発することは, 医療における重要な課題の一つである。近年, 従来の治療法に加えて, 高血圧や糖尿病などの AF リスクファクターの適切な管理が AF 治療戦略における新たな柱と考えられている。不正咬合は主要な口腔障害の一つである。これまでに, 不正咬合などによる口腔内ストレスが自律神経の失調をもたらし, 全身の他臓器疾患の原因となる可能性が指摘されている。交感神経系の慢性的な活性化は AF 発症および AF 病態増悪の因子の一つであることが知られているが, その分子機構は未だ不明な点が多く, 不正咬合と AF との関連についてはほとんど解明されていない。我々の研究室は, げっ歯類の下顎切歯に歯科用レジンを装着することにより強制的に開口させる開口負荷 (enforced bite-opening: BO) 実験系を不正咬合の簡便な動物モデルとして構築した。一方, 我々は安定的に一過性 AF を誘発するマウスの実験系を確立し, 薬剤の抗 AF 作用などを証明してきた。本研究では不正咬合が AF のリスクファクターであるという仮説を立て, 上記 2 つの実験系を用いて AF に対する BO の影響を検討した。その結果, BO による口腔内ストレスは交感神経系の慢性的な亢進を介して心房組織のリモデリングを惹起し, AF のリスクを高め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。

Intraoral stress induced atrial remodeling and increased risk of atrial fibrillation in mice

○Suita K¹, Yagisawa Y², Hayakawa Y³, Matsuo I⁴, Kawamura N⁴, Ito A², Ishikawa M⁵,
Umeki D², Ohnuki Y¹, Okumura S¹

¹Dept Physiol, ²Dept Orthodont, ³Dept Anesthesiol, ⁴Dept Periodontol, ⁵Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Atrial fibrillation (AF) is the most prevalent cardiac arrhythmia, especially among elderly people, and a source of considerable morbidity and mortality. Recently, it is emphasized that the appropriate modification of the risk factors is a novel important approach for AF care in combination with rhythm control, rate control and anticoagulation therapies. Autonomic nervous system plays an important role to improve cardiac function against acute change of hemodynamics. β -adrenergic receptor (β -AR) signaling is recognized as one of the most important regulators to maintain cardiac function by sympathetic activity. However, persistent sympathetic activation is known to increase the risk of AF occurrence and perpetuation. Malocclusion is one of the most common oral disorders, and its prevalence is high in most countries. It has been suggested that occlusal disharmony such as malocclusion has various adverse effects not only on the oral cavity but also other organs via intraoral stress-induced autonomic imbalance. We hypothesized that the intraoral stress induced by enforced bite-opening (BO) may increase AF susceptibility via sympathetic activation. In this study, we tested this hypothesis by using BO-treated mice with or without β -AR antagonist propranolol. The data suggested that intraoral stress is contributable to the atrial remodeling and increased AF susceptibility.

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

US6-1 他分野の研究者・企業との連携

○山田 好秋
東歯大 短大

私の研究は常に自作の研究装置で行ってきた。新潟大学に入学するとすぐに趣味の無線部を通して工学部に入入りし、電子回路・プログラミングの手法を学んだ。そして、工学部から2人の人材を歯学部へ預かり、工学部へ教授として返す手伝いもした。これまでに開発したウサギを実験モデルに下顎運動と咀嚼筋・嚥下関連筋活動を長時間、しかも自由行動下に記録する装置は他に類を見ず、競争的資金もいただき、看護・言語聴覚など歯科界以外からも多くの大学院生を受け入れ育てることができた。

大学院時代にはラットを使って咀嚼時の顎反射を研究していた。嚥下の研究を始めたきっかけは助教授として最初に担当した大学院生が顎反射の研究でなく嚥下の研究をしたいと希望したからである。さらに、咀嚼運動中枢の研究を通して、ヒトの咀嚼運動が脳機能の低下に伴いどのような影響を受けるか知りたくて脳外科病院の入院患者さんと面会した結果、咀嚼運動はあまり障害されないが、嚥下は障害されることを知り、嚥下の研究に重きを置くこととした。

嚥下の基礎研究が縁で、摂食嚥下リハビリテーションの臨床家から学会への協力を求められ、口腔生理学の知識を診断・治療に役立てる手伝いをしてきた。そして、亀田製菓と嚥下困難者用食品の開発を手がけたことから、多くの食品メーカーや農学部の先生方と共同研究することとなった。嚥下の研究を通して口腔生理学が社会に大きく貢献していることは大手の食品メーカーから共同研究の申し出があったことから視える。現在、筋電図・口唇閉鎖力・口腔内圧を記録することで口腔機能を評価する装置を開発するプロジェクトを機械メーカーと進め、特許をいくつか取得している。

歯学部の存在価値は決して小さいとは思わないが、社会との連携がなければ小さな学部として埋没してしまう。少し毛色が変わった研究歴ではあるが、私の経験をお話する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Collaboration with researchers and companies in other fields

○Yamada Y
Tokyo Dent Jr Coll

My research has always been accomplished with my own research equipment. After entering Niigata University, I got contact with engineering faculty and learned how to design electronic circuits and program. I helped to recruit two human resources from engineering faculty to dental faculty. They have returned and now are active professors of engineering faculty. I have developed a system to record mandibular movement and masticatory/deglutition-related muscle activities for a long period from freely moving rabbits. It is unique, thus has succeeded to get competitive funds and to educate graduate students who have backgrounds of dentistry, nursing, therapist etc. Visiting at a Neurology Hospital affected me to change the research way from mastication to swallow.

I tried to transfer the knowledge of oral physiology to the diagnosis and treatment of dysphagia rehabilitation. I have worked with KAMEDA SEIKA to develop a food for dysphasia patients and have conducted joint research with food makers and members of Aquiculture department. Currently, I am working with a company to develop devices that evaluate oral function by recording electromyography, lip closure force, and intraoral pressure, and has obtained several patents. I have a slightly unique research background, and I will talk about my experience.

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

US6-2 研究を継続すること

○東 みゆき

医科歯科大 院医歯 分子免疫

私の出身は、口腔外科である。臨床と研究に早朝から深夜まで没頭する日々を続けていたが、歯学部卒業後10年目に基礎（免疫）研究で生きてみようかと決断した。それから、歯学部とは離れた環境での7年を経て、今から約20年前に私は母校の大学の歯学系大学院の新設分野の教授として赴任した。当初は、広さ21mm²の電話線だけが出ている何もない部屋から始まった。実験室もない、実験機器もない、研究資金もないという無い無い尽くし中で、唯一私が持っていたのは、共に研究をしたいという仲間であった。それから20年、現在は居室と実験室を含めるとほぼ10倍のスペースがある。研究スペースや研究資金は、研究成果とリンクするのか。研究者が夢を抱きながら、ドキドキ・ワクワクして研究できる世界を研究室運営者はどのように作り出せば良いのか。研究者の興味と求められる成果のギャップにどう取り組めば良いのか。オーガナイザーの先生からいただいた宿題である、“独創的な研究の実現”という課題に対して、これまで辿った自身の研究の歩みを振り返りながら、考えてみたい。

【利益相反】 なし

Continuing own research

○Azuma M

Mol Immunol, Grad Sch Med Dent Sci, Tokyo Med Dent Univ (TMDU)

I received my PhD in the field of Oral and Maxillofacial Surgery. I performed both clinical and basic research in the oral surgery department for over 10 years. And then, I decided to concentrate my study to basic research. (Immunology). After 7 year's experiences in the medical field, I became a professor at my alma mater (TMDU). In the beginning, I only had a small professor room, and had no laboratory, no laboratory equipment, and no grant. But fortunately, I had sufficient fellowship who want to work together with me. Two decades later, my lab has around 10-fold space. I have continued my life work study "T cell functional molecules". Looking back on my research way, I would like to discuss how to organize the lab and encourage researchers to pursue "original research".

Conflict of Interest: I have no conflict of interest.

US6-3 Serendipity を求めて

○平田 雅人

福歯大 口腔歯

Serendipity という単語をご存知と思います。求めていたモノとは異なる発見をする能力、あるいは発見したモノをいうのだそうです。そのような発見は予期することなく偶然におきますが、一番重要なのは準備したココロがあるからだといわれます。準備したココロがあるから、予期しない出来事に含まれる新しいことに気付くのでしょう。準備したココロを養うには、日頃から幅広い知恵を身につけ、幅広い知識を求めて活動することです。視野を広げることです。真似事ではない、常に何か新しいことを目指すようにしましょう。歯学で十分と思っただけではダメで、広い生命科学の世界を知ることです。私がおのころには出来なかった反省を踏まえて、若い方々に伝えたいと思います。

さて、私自身は一貫して細胞内カルシウムが関わる細胞シグナリング研究に従事してきました。その過程で、新規の $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ 結合性タンパク質を見出し、その細胞内における機能解明を目指して研究を継続してきました。そして、近年は骨基質タンパク質の1つであるオステオカルシンによる内分泌機能に関する研究に従事しています。これらの研究過程では多くの先輩・同輩・後輩と協力してきました。全員がそうであったとは申せませんが、「坐辺皆師匠」(我以外皆我師とも言うそうです)であったことをつくづく思います。本講演では Serendipity の語源から紹介し、幅広い視野を持つことの大切さを話したいと思います。

【利益相反】 利益相反はありません。

Of serendipity and science

○Hirata M

Sch Dent Med, Fukuoka Dent Coll

I cite two serendipitous stories written by Arthur Kornberg in the Summer 1995 Stanford Medicine Magazine.

(1) This was eloquently explained recently by Harold Varmus. In addressing the "Conference to Establish a National Plan on Breast Cancer," he cited his extensive studies on the virus that causes mammary cancer in mice, a line of research that I think he chose because of the breast cancer that killed his mother and her mother. Varmus' studies on breast cancer led to the discovery of cellular oncogenes, honored by a Nobel Prize in 1989. Actually, Varmus' studies yielded no insights into human breast cancer, but they did provide an important advance in understanding brain development.

(2) A research program headed by Robert Weinberg at MIT, directed toward a rat brain tumor, did make a major contribution to understanding human breast cancer. Of the several genes now known to be involved in human breast cancer, all but one were discovered by researchers working on something other than breast cancer. Clearly, the ubiquity of biological design means that a specific disease model as a target is far too narrow to encompass the complexities of a disease process, such as cancer or a degenerative brain disease.

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

US7-1 特徴的な軟骨内骨化を示す翼状突起軟骨の組織学的解明

○北村 啓

東歯大 組織発生

蝶形骨翼状突起の発生は軟骨内骨化により形成されることが知られている。また翼状突起軟骨は、「遅れて発生する」「2次骨化中心がない」という理由から下顎頭軟骨と同様の2次軟骨に定義される。しかし、翼状突起軟骨の発生から骨化という経時的な形成過程に追った報告はなく、不明な点が数多くある。そこで我々は、翼状突起軟骨の一連の骨化形態を報告するとともに、2次軟骨細胞の形態学的、分子生物学的な特徴を解明することを目的とした。試料は胎生期及び出生後3日のICR系マウス、Runx2ヘテロノックアウトマウス(Runx2^{+/-})を用いた。試料採取後、適法に従いパラフィン包埋、薄切、各種染色を行い、組織学的観察を行った。翼状突起の発生は間葉細胞の凝集とその内部に存在する骨様構造物から始まった。その後、上部に膜性骨化領域、下部に軟骨内骨化領域が形成され、軟骨細胞の急速な骨化とともに骨襟が形成された。この急速な骨化は翼状突起の幅径、高径を大きく増加させていた。また、軟骨細胞は翼状突起の最底面となる線維層から発生し、顎顔面領域に存在する成長軟骨の中で最も小さい肥大軟骨を有していた。一方、Runx2^{+/-}の翼状突起の発生は初期の間葉細胞の凝集を認めず、膜性骨化領域の欠損により軟骨層は上部に存在した。その後、軟骨の骨化遅延と骨襟の形成不全が認められ、出生後にも軟骨内骨化領域が残存していた。以上より、翼状突起軟骨は間葉細胞の凝集、骨様構造物の形成の後に発生し、肥大化の弱い軟骨細胞のまま骨化するという特徴を持つことが明らかとなった。また、翼状突起における軟骨内骨化の過程は初期からRunx2の制御を受けている可能性が示唆された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Histological study of the pterygoid process during endochondral ossification

○Kitamura K

Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll

Sphenoid bone pterygoid process, classified as secondary cartilage, develops via endochondral ossification. The details on the developmental mechanism of this structure remains unclear. This study reported on the series of ossification forms involved in the development of the pterygoid process, and investigated the morphological and molecular biological features of secondary chondrocytes through histological observations. The growth of the pterygoid process began from the aggregation of mesenchymal cells and osteo-like tissues within them. Later, a membranous ossification region formed in the upper layer, an endochondral ossification region formed in the lower layer, and a bone collar formed with the rapid ossification of chondrocytes. Results suggested that that chondrocytes developed from fibroblastic/polymorphic tissues of the pterygoid process, and these cells ossified from small hypotrophic chondrocytes. Aggregation of mesenchymal cells was not observed during the initial development of the pterygoid process in Runx2 hetero knockout mice. The endochondral ossification region was located in the upper layer due to the lack of the membranous ossification region. As a result, cartilage ossification was delayed, the bone collar was malformed, and the endochondral ossification region remained even after birth. Endochondral ossification in the pterygoid process may be controlled by Runx2 at early stages of development.

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

US7-2 軟骨内骨化における septoclast の由来と役割

○坂東 康彦, 長坂 新, 崎山 浩司, 天野 修
明海大 歯 解剖

septoclast は長管骨骨端板の骨軟骨境界に存在し, cathepsin B や MMP-13 などの有機質分解酵素を発現し, 細長く伸びた突起の先端が骨端板の非石灰化軟骨基質である横隔に達していることから, 横隔の吸収に関与すると考えられている.

我々はこれまでに骨端板の非石灰化軟骨基質である横隔の吸収に関与すると考えられている septoclast に表皮型脂肪酸結合タンパク (epidermal-type fatty acid binding protein, E-FABP, FABP5) が骨端板領域で特異的に発現することを見出した. FABP は水不溶性の長鎖脂肪酸の細胞内輸送タンパクであるが, E-FABP は脂肪酸だけではなくレチノイン酸の細胞内輸送タンパクにもなる. これまでの我々の解析により, septoclast に発現する E-FABP の役割として①ミトコンドリアへ長鎖脂肪酸を輸送し脂肪酸代謝によるエネルギー産生に関与する, ②核へレチノイン酸を輸送し細胞の増殖・維持を誘導するレチノイン酸シグナル伝達系に関与する, ということが示唆されている.

septoclast は単核の食細胞と考えられるが, 由来と役割はマクロファージやその他の食細胞とは異なる. septoclast は原基軟骨中央部の軟骨膜に面する血管周囲のペリサイト (血管周皮細胞) から分化し E-FABP を発現する. 発生直後は細胞体は丸く突起は短い. 血管の軟骨原基への進入に伴い, 進入血管の先端部の内皮細胞に隣接し, 軟骨吸収面に面しながら移動する. 一次骨化中心形成途中では細胞体は徐々に大きく, 突起は徐々に長くなり先端が von Kossa 陰性の非石灰化軟骨基質に達する. 一次骨化中心完成時には骨端板の骨軟骨境界部に収束し, 紡錘形の細胞体から伸びる細長い突起の先端が骨端板軟骨基質に達し, 成獣でみられる様な分布と形態になる. 本研究から septoclast は軟骨内骨化において軟骨原基への血管進入と軟骨吸収に関与することが示唆される.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

Origin and role of septoclasts in endochondral ossification

○Bando Y, Nagasaka A, Sakiyama K, Amano O

Meikai Univ Sch Dent Dept Human Dev Foster Div Anat

Septoclast is a mononuclear phagocyte and its origin and role are different from those of macrophages and other phagocytes. Septoclasts are differentiated from pericytes around the capillaries facing perichondrium in the central part of cartilagenous template and expresses epidermal fatty acid binding protein (E-FABP, FABP5). Early in development, septoclasts have spherical cell bodies and short processes. When the blood vessels invade into the cartilage matrix, septoclasts migrate adjacent to the endothelial cells at the tip of the invading blood vessel and distribute along the surface of cartilage resorption. During formation of the primary ossification center, the cell bodies gradually become larger, and the processes become gradually longer and the tips of the processes reach the von Kossa negative non-calcified cartilage matrix. At the completion of the primary ossification center, septoclasts converge on the chondro-osseous junction of the epiphyseal plate, and the tips of the elongated processes extending from the spindle-shaped cell body reach the growth plate cartilage matrix, resulting in a distribution and form as seen in adult mice. The present study suggests that septoclasts are involved in blood vessel invasion into the cartilage matrix in endochondral ossification and cartilage resorption in primary ossification center formation.

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

US7-3 軟骨内骨化過程におけるポリコム群タンパク質 Bmi1 の局在

○建部 廣明, 細矢 明宏, Nazmus Shalehin, 入江 一元
北医療大 歯 組織

Bmi1 (B cell-specific moloney murine leukemia virus integration site 1) はポリコム群タンパク質の一つとして、多くの分化関連遺伝子の発現を調節している。Bmi1 を欠損したマウスは、骨の成長遅延が生じることが報告されているが、Bmi1 の骨芽細胞分化に関する詳細な機能は不明な点が多い。そこで本研究では、軟骨内骨化過程における Bmi1 陽性細胞の局在を明らかにする目的で、免疫組織化学的に検討を行った。胎生 14~20 日齢ラット脛骨のパラフィン切片を作製し、Bmi1 ならびに骨芽細胞分化マーカーとして Osterix および Runx2 の免疫局在を観察した。胎生 14 日では、将来脛骨が形成される部位に間葉細胞の凝集を認め、その内部および、周囲の細胞で散在性に Bmi1 の陽性反応がみられた。胎生 18 日になると、肥大化した軟骨細胞と bone collar を形成する骨芽細胞および、その近傍の細胞に Bmi1 と Osterix の反応が認められた。一方、骨膜中の細胞も Bmi1 陽性を示したが、Osterix の免疫反応は認められなかった。胎生 20 日では厚い骨基質が形成され、Osterix 陽性を示す骨芽細胞ならびに前骨芽細胞で Bmi1 の局在が認められた。以上の結果から、Bmi1 は骨芽細胞系譜細胞の分化において、初期から関与することが示唆された。また、我々は肋骨骨折実験動物モデルを作製し、骨折の修復過程における Osterix, Runx2 および、Bmi1 の局在を免疫組織学的に検索中であり、本シンポジウムでその結果の一部を発表する。

【利益相反】 本発表において利益相反はありません。

Distribution of Bmi1 on endochondral ossification

○Takebe H, Hosoya A, Shalehin N, Irie K
Dept Histol, Health Sci Univ Hokkaido

Bmi1, encoded by B cell-specific moloney murine leukemia virus integration site 1, is a member of the polycomb group of proteins which regulate the expression of various differentiation genes. It has been reported that *Bmi1*^{-/-} mice displayed skeletal growth retardation, however, the regulatory mechanism of skeletal development by Bmi1 is not fully understood. In this study we observed the distribution of Bmi1 during the processes of endochondral ossification in rat tibia at pre-natal 14-20 days. Bmi1-positive cells were observed in mesenchymal cell condensation area (tibia formed area) at pre-natal 14 days. At pre-natal 16 days, chondrocytes became hypertrophic and bone collar was observed in tibia formed area. The immunoreactivity of Bmi1 was observed in osteoblasts at the surface of bone collar as well as some hypertrophic chondrocytes. Osterix and Runx2 showed similar distribution patterns as that of bmi1. These results suggested that Bmi1 might regulate the early stage of osteoblast differentiation during endochondral ossification. Observation of Osterix-, Runx2- and Bmi1- positive cells during the healing processes of bone fracture are undergoing and these results will be collectively showed at this symposium.

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

US7-4 変形性顎関節症モデルマウスにおける NG2 プロテオグリカンと VI 型コラーゲンの相互作用

○四ツ谷 護

東歯大 クラウンブリッジ補綴

変形性顎関節症 (TMJ-OA) は、下顎頭をはじめとする顎関節組織の骨変化や破壊を特徴とする顎関節の退行性病変で、現在では MRI 検査による確定診断が可能となっているが、変形性顎関節症の発症メカニズムには未だ不明な点が多い。そこで我々は顎関節の関節円板部分的切除を行った変形性顎関節症モデルマウス (OA マウス) を作出し、退行性変化における下顎頭関節軟骨の発症初期の病態生理について免疫組織化学的に検討することとした。本研究では、軟骨基質の多くを占めるプロテオグリカンの中でも細胞膜貫通型の NG2 プロテオグリカン (NG2) に着目した。近年、NG2 は軟骨や骨での発現が確認され、ガン細胞の移動や増殖にも関与することが報告されている。今回、多機能で複数のドメインを持つ NG2 と VI 型コラーゲンの相互作用を詳細に解析することを目的とした。まず NG2 と VI 型コラーゲンの共局在を確認した。線維層、増殖層および分化層では膜結合型の NG2 が強く発現し、VI 型コラーゲンとの共局在化が観察されたが、肥大層では細胞質基質内で NG2 が強く発現していた。次に、変形性顎関節症の進行を把握するために関節円板部分的切除後の OA マウスを試料として下顎頭関節軟骨の形態変化を観察した。4 週齢では下顎頭の平坦化が起り、線維層の肥厚、プロテオグリカンの増加を認めた。8 週齢になると線維層の亀裂、12 週齢になると組織破壊が進み、微小繊維化、プロテオグリカンの減少、下顎頭表層の軟骨細胞の配列不正や非連続性が見られた。また、この 8~12 週齢においては、エンドサイトーシスのマーカーである clathrin や α -adaptin と共に NG2 が細胞質基質で発現しており、病態の進行とともに NG2 の発現部位には相違がみられた。このことは膜結合型 NG2 が切断され、細胞内に取り込まれている可能性を示しており、TMJ-OA 進展において起こる NG2 の内在化は、下顎頭関節軟骨の退行性変化の初期変化におけるシグナル制御に関与す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。

Neuron/glia antigen 2-type VI collagen interactions during murine temporomandibular joint osteoarthritis

○Yotsuya M

Tokyo Dent Coll, Dept Fixed Prosthodont

The degeneration of articular cartilage underscores the clinical pathology of temporomandibular joint osteoarthritis (TMJ-OA) and is promoted through dysfunctional biochemical or biophysical signaling. Transduction of these signals has a multifaceted regulation that includes important cell-matrix derived interactions. The matrix encapsulating the cells of the mandibular condylar cartilage (MCC) is rich in type VI collagen. Neuron/glia antigen 2 (NG2) is a type I transmembrane proteoglycan that binds with type VI collagen. This study defines the temporospatial dynamics of NG2-type VI collagen interactions during the progression of TMJ-OA. Membrane-bound NG2 is found to colocalize with pericellular type VI collagen in superficial layer cells in the MCC perichondrium but is present at high levels in the cytosol of chondroblastic and hypertrophic cells. When TMJ -OA is induced using a surgical instability model, localized disruptions of pericellular type VI collagen are observed on the central and medial MCC and are associated with significantly higher levels of cytosolic NG2. NG2 localized within the cytosol is found to be transported through clathrin and dynamin mediated endocytic pathways. These findings are consistent with NG2 behavior in other injury models, and underscore the potential of NG2 as an entirely novel molecular mechanism of chondrocyte function contextually linked with TMJ-OA.

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

O1-01 *Dgcr2* ノックアウトマウスを用いた 22q11.2 欠失症候群の顎顔面症状と頭蓋底成長との関連性の解析

○梶原 景正

東海大 医 分子生命科学

我々は、マウス脳刺激後に発現誘導される *Sez12* 遺伝子をクローニングし、22q11.2 欠失症候群 (22q11.2DS) のゲノム欠失領域にコードされるヒト *DGCR2* 遺伝子のマウスホモログであることを明らかにした。そこで *Dgcr2* 遺伝子機能について、22q11.2DS の顎顔面症状との関連性を *Dgcr2* 遺伝子ノックアウト (*Dgcr2*-KO) マウスを用いて検討している。これまで *Dgcr2* 発現が軟骨組織で顕著に認められ、離乳後の *Dgcr2*-KO マウスで頭蓋底軟骨結合の形成不全による顔面骨格異常が認められた。今回、*Dgcr2*-KO 細胞で亢進が認められる TGF- β シグナルに注目し、軟骨細胞での *Dgcr2* 発現動態と TGF- β シグナル変化、および軟骨細胞の機能変化について検討した。初代野生型軟骨細胞に 25 ng/ml TGF- β 1 を投与すると、30 時間後に *Dgcr2* 発現が確認され、TGF- β シグナル活性が低下した。しかし細胞形態に変化はなく、II 型および X 型コラーゲンともに発現する瓦状軟骨細胞を維持していた。一方、初代 *Dgcr2*-KO 軟骨細胞では、TGF- β 投与 30 時間後でもリン酸化 Smad2 が確認でき、細胞形態は II 型コラーゲンのみを発現する線維芽細胞様の形態に変化しており、肥大軟骨細胞特有の X 型コラーゲン発現は全く認められなかった。以上のことから、*Dgcr2* 遺伝子機能は TGF- β シグナル活性を抑制的に制御するが、その抑制効果は TGF- β 刺激から比較的遅延して発揮された。この *Dgcr2* の遅延型シグナル抑制効果は、軟骨内骨化の軟骨分化過程において重要な役割を果たすと考えられ、その欠失が 22q11.2DS 顎顔面症状に寄与すると予想される。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Inducible expression of the *Dgcr2* by TGF- β signaling normalizes chondrocyte differentiation in cranial base during maxillofacial development

○Kajiwara K

Dept Mol Life Sci, Tokai Univ, Sch Med

The *DGCR2* gene has been proposed to play a role in 22q11.2 deletion syndrome. To explore its function, we generated *Dgcr2*-knockout/eGFP-knocked-in mice (*Dgcr2*-KO mice), which showed skeletal hypoplasia after weaning significantly in maxillofacial region. The phenotypes include deviation of nasal septum, early malformations of basilar cartilage and differentiation defects of pre-hypertrophic chondrocytes. In the embryonic *Dgcr2*-KO fibroblasts treated with TGF- β for 24 hours, we found obvious elevation of TGF- β signaling activity by Luc-reporter assay. However, these excessive signaling disappeared after transient *Dgcr2* expression. Furthermore, in 30 hours after application with TGF- β 1, the primary cultured *Dgcr2*-deficient chondrocytes kept TGF- β signaling and appreciably declined in expression of type X collagen compared to wild-type ones showing expression of both type II and type X collagen. At that time, the *Dgcr2* protein could be detected inducibly in the wild-type chondrocytes. These results suggest that *Dgcr2* could normalize TGF- β signaling activity for differentiation from replicative to hypertrophic chondrocytes after birth.

Conflict of Interest: The author declares no conflict of interest.

O1-02 骨細胞分化や分化段階の維持における Wnt- β カテニン経路の役割

○草野慎之介¹, 犬伏 俊博¹, 村田 有香¹, 伊藤 慎将¹, 黒坂 寛¹, 佐々木淳一²,
山城 隆¹

¹阪大 院歯 矯正, ²阪大 院歯 歯科理工

【目的】 Wnt- β カテニンの骨組織特異的のノックアウトマウスは重篤な骨減少を示すことから、骨組織において重要な役割をしていると考えられるが、その詳細については未だ明らかにされていない。今回、Wnt- β カテニン経路のレポーターマウス (R26-WntVis) を用いて、in vivo における Wnt- β カテニン経路の活性を観察するとともに、その役割について培養実験系を用いて明らかにすることを目的とした。【試料および方法】 R26-WntVis マウス頭蓋冠および長管骨の凍結切片を作成し、蛍光顕微鏡にて観察した。細胞培養実験では、骨芽細胞株である IDG-SW3 細胞株と Dmp1 プロモータにて GFP を発現するマウスの頭蓋冠から採取した GFP 陽性の初代培養骨細胞を使用した。培養液中に Wnt- β カテニン経路の特異的アゴニストまたはアンタゴニストを添加し、形態観察ならびに分化マーカー遺伝子発現の解析により骨細胞分化段階を評価した。【結果および考察】 マウス頭蓋冠および長管骨では、骨芽細胞や骨細胞で高い Wnt- β カテニン経路の活性を認めた。マウス初代培養骨細胞に対するアゴニスト添加では骨細胞マーカー陽性細胞率の増加とともに細胞突起の形成の亢進を認めた。アンタゴニスト添加では、蛍光標識された細胞数が減少し、脂肪細胞への脱分化が確認された。このことから、骨細胞の分化段階の維持には Wnt- β カテニン経路が必要であることが明らかになった。一方、IDG-SW3 細胞株では、アゴニスト添加により骨細胞マーカー陽性細胞率の増加が認められ、さらに石灰化が亢進していることから、骨細胞分化が進んでいることが確認された。【結論】 本研究結果により、骨細胞への分化や分化段階の維持において Wnt- β カテニン経路の活性化が必須であることが明らかになった。本結果は、骨代謝異常疾患の原因解明と新規治療法開発に貢献す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。

The role of Wnt- β catenin signaling in osteocyte differentiation and maintenance of osteocyte differentiation stage

○Kusano S¹, Inubushi T¹, Murata Y¹, Ito S¹, Kurosaka S¹, Sasaki J², Yamashiro T¹

¹Osaka Univ Grad Sch Dent Dept Orthodont, ²Osaka Univ Grad Sch Dent Dept Biomater Sci

Purpose Wnt/ β -catenin signaling is thought to play an essential role in osteocyte-mediated bone metabolism. However, it is still unclear how Wnt/ β -catenin signaling in osteocyte regulates bone metabolism. In this study, we monitored the activity of Wnt/ β -catenin signaling in vivo, and investigated the role of Wnt/ β -catenin signaling in vitro. Materials and Methods Frozen sections of mouse calvaria and long bones were analyzed by fluorescence microscope. The mouse osteoblastic-late-osteocytic cell line IDG-SW3 and primary osteocytes were used. Wnt/ β -catenin signaling specific agonist or antagonist were added to cultures, then osteocytic differentiation was evaluated by the quantitative RT-PCR analysis. Results The high activity of Wnt/ β -catenin signaling was observed in osteoblasts and osteocytes. In primary osteocytes, Wnt/ β -catenin signaling specific agonist increased the number of GFP-positive cells, which represent osteocytic differentiation, and induced osteocytic morphological changes. In contrast, Wnt/ β -catenin signaling specific antagonist decreased the number of GFP-positive cells. Consistently, in IDG-SW3 cells, Wnt/ β -catenin signaling agonist increased the number of GFP-positive cells with increased expression of osteocytic differentiation markers. Conclusion The present study demonstrates the essential roles of Wnt/ β -catenin signaling in osteocyte differentiation and in the maintenance of osteocyte characteristics. Presenting results might contribute to develop a novel therapeutic approach for the metabolic bone diseases. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

O1-03 破骨細胞分化過程における低出力超音波パルスの細胞死誘導作用とそのメカニズムの解析

○青山絵理子¹, 久保田 聡², 滝川 正春¹

¹岡大 院医歯薬 歯先端研セ

²岡大 院医歯薬 口腔生化

低周波超音波パルス (LIPUS: Low Intensity Pulsed Ultrasound) 発生装置は骨折治療に有効な医療機器として認可されている。しかし、その作用機序については、骨芽細胞の増殖・分化促進作用や軟骨細胞の分化促進作用が報告されているものの、破骨細胞への影響に関する報告は少なく、統一見解は得られていない。これまでに我々はマウス骨髄細胞から成熟破骨細胞を誘導する系を用いて LIPUS の破骨細胞分化に及ぼす影響およびその作用機序について検討を行い、LIPUS 照射群による成熟破骨細胞数の抑制および破骨細胞分化の初期段階でのアポトーシス誘導を見いだした。また、この時にメカニカル刺激の伝達経路の一つである Hippo-YAP/TAZ 経路に属する転写補助因子 TAZ の核移行が抑制されるという結果も得ており、これらの知見を昨年の本大会において発表した。今回はさらにそのメカニズムについて解析を進めた結果について報告する。TAZ は転写因子 TEAD と結合してその転写活性を促進するが、これらの転写複合体の標的遺伝子の代表的なものとして CCN2 が知られている。そこで LIPUS 刺激した細胞における CCN2 遺伝子発現を調べたところ、無処理群に比べて低下しており、このことは先に得られた LIPUS による TAZ の核移行抑制作用と合致する。また、機械的刺激で F-アクチンの形成が促進されることが知られているが、LIPUS 処理された細胞で F-アクチンが増加していることも分かった。これらの知見は LIPUS 刺激がアクチン重合促進および Hippo 経路の活性化に伴う CCN2 発現低下を介して破骨細胞前駆細胞のアポトーシス、ひいては成熟破骨細胞数の抑制を引き起こしている可能性を示唆している。非会員共著者：山中信康(伊藤超短波株式会社)

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Repressive effect of low intensity pulsed ultra sound on osteoclast differentiation

○Aoyama E¹, Kubota S², Takigawa M¹

¹ARCOCS, Okayama Univ, Dent Sch /Grad Sch Med Dent Pharm Sci

²Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

LIPUS (Low intensity pulsed ultra sound) is a kind of mechanical stimulation and has the positive effects on bone fracture healing, most of reports about these positive effects were based on the researches in osteoblasts and chondrocytes. However, the effects of LIPUS on osteoclasts are not fully clarified. We have presented that LIPUS induced apoptosis and inhibited the nuclear translocation of a transcriptional co-activator TAZ in pre-osteoclasts. In the present study, we investigated more detailed mechanism of the effects of LIPUS in osteoclasts using mouse bone marrow cell culture system. A transcriptional co-activator TAZ locates under Hippo signaling pathway that is known to mediate mechanical stimuli. CCN2 gene is one of typical target genes regulated by TAZ binding with transcriptional factor TEAD. The real-time PCR assay showed that LIPUS stimulation decreased CCN2 gene expression in pre-osteoclasts. This finding was consistent with the repressive effect of LIPUS stimulation on the nuclear translocation of TAZ. Furthermore, LIPUS stimulation increased F-actin affected by mechanical stimuli in the cells. These data suggest that LIPUS stimulation induced programmed cell death in pre-osteoclasts via Hippo pathway and actin polymerization.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O1-04 ヒト骨芽細胞において活性持続型ビタミン C は III 型コラーゲン合成を介して細胞増殖を促進する

○畑 隆一郎, 前畑洋次郎

神歯大 院歯 口腔難治疾患研

【目的】我々はヒト骨芽細胞の増殖・分化にコラーゲンが必須であることを報告した。また、骨の骨格形成に重要な I 型コラーゲンが骨芽細胞の分化を促進することを示した。しかし、細胞増殖に關与するコラーゲン分子種はまだ特定されていない。そこで骨芽細胞の増殖に關与するコラーゲン分子種の検討を行った。【方法】ヒト骨芽細胞様細胞である MG-63 細胞を活性持続型ビタミン C (Asc 2-P), 存在, および非存在下で培養した。遺伝子発現の変化は cDNA マイクロアレイ法, ノーザンプロット法及び RT-PCR 法を用いて評価した。さらに, コラーゲタンパク質の合成量はフルオログラフィーにより測定した。【結果】Asc 2-P は MG-63 細胞の増殖, および III 型コラーゲン合成を促進したが, 本実験条件では I 型コラーゲン α 鎖遺伝子である COL1A1 の発現に変化は見られなかった。正常ヒト骨芽細胞及び, ヒト骨髓由来未分化幹細胞においても同様の結果が得られた。また, III 型コラーゲン被覆培養皿上で MG-63 細胞の増殖活性は促進された。さらに, siRNA を用いて III 型コラーゲン α 鎖遺伝子である COL3A1 の発現を阻害したところ, COL3A1 の発現抑制レベルに比例して MG-63 細胞の細胞増殖活性は低下した。【結論】III 型コラーゲンはヒト骨芽細胞においてマイナー成分ではあるが, 細胞増殖を促進するコラーゲン分子種であることが示された。また, 骨折治癒初期過程や, 頭蓋骨縫合部に拡大矯正力を加えた際に, III 型コラーゲンの発現が促進されることから, 骨基質に僅かに存在している III 型コラーゲンは骨形成時, および再生時の骨芽細胞増殖に必須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。

Type III collagen is essential for growth acceleration of human osteoblastic cells by ascorbic acid 2-phosphate, a long-acting vitamin C derivative

○Hata R, Maehata Y

Oral Health Sci Res Cent, Kanagawa Dent Univ Grad Sch

(Purpose) Collagen has been reported to be essential for the proliferation of various kinds of cells including human osteoblastic cells, but the type(s) of collagen responsible for growth regulation is not known. (Materials and Methods) Human MG-63 cells, normal human osteoblasts and human bone marrow-derived mesenchymal stem cells were cultured in the presence or absence of ascorbic acid 2-phosphate (Asc-2P). The levels of mRNA and protein were analyzed. (Results) We found that Asc 2-P stimulated both cell growth and the expression of mRNA for type III collagen, but not the expression of type I collagen in all cell lines examined. Among MG-63 cell clones, their growth rates correlated significantly with their COL3A1 mRNA levels but not with their COL1A1 or COL1A2 messenger RNA levels. Transfection of MG 63 cells with siRNA for COL3A1 decreased the growth rates of the transfected cells, concomitant with a drop in the level of COL3A1 mRNA. Furthermore, cell proliferation as observed by thymidine incorporation into DNA and cell number was increased when MG-63 cells were cultured on type III collagen-coated dishes. (Conclusion) These results indicated that type III collagen is the collagen component responsible for the growth stimulation of human osteoblastic cells.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O1-05 骨芽細胞分化における Vgll3 の発現

○池亀 美華, 内部 健太, 岡村 裕彦

岡大 院医歯薬 口腔形態

【背景】 Vgll3 は共転写因子であり, 脂肪細胞分化を抑制し, 骨芽細胞遺伝子発現を誘導することが報告されている. 我々は, マウス頭蓋縫合において張力刺激によって骨芽細胞分化を促進する系で, Vgll3 の遺伝子発現が増加することを見出した. しかし, 骨芽細胞分化における Vgll3 の役割には不明な点が多く残されている. そこで, 我々は骨芽細胞分化過程における Vgll3 の発現を調べた. 【材料と方法】 生後 4 日齢の ddY マウスから頭蓋冠を採取し, 矢状縫合部に張力刺激を加えて, あるいは加えずに培養し, パラホルムアルデヒド固定の後, 凍結切片を作製した. また前骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 を骨芽細胞へと分化誘導し, 経時的に固定, あるいは RNA を抽出した. これらの試料について, Vgll3 のタンパク質局在を蛍光免疫組織化学により検出した. さらに, MC3T3-E1 の分化過程におけるアルカリ性ホスファターゼ活性の発現を酵素組織化学的に, Vgll3 および骨芽細胞関連因子の遺伝子発現変化をリアルタイム PCR により解析した. 【結果】 Vgll3 の局在を示す蛍光は骨縫合部中の多くの細胞に観察された. 張力を与えた縫合部中の細胞は伸長し, 頭頂骨の骨形成端で前骨芽細胞数が増加し, それらの細胞の細胞質に蛍光が観察された. MC3T3-E1 においては, 分化に伴いアルカリ性ホスファターゼ活性および Osterix の遺伝子発現が増加し, Osterix および Vgll3 の遺伝子発現レベル, ならびに Vgll3 の核への局在化は, 時間経過にともないほぼ同様のタイミングで変動した. 【結論】 以上から, Vgll3 は Osterix と共に働くことにより骨芽細胞の分化において何らかの役割を果た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.

Expression of Vgll3 during osteoblast differentiation

○Ikegame M, Uchibe K, Okamura H

Dept Oral Morphol, Okayama Univ Grad Sch Med, Dent Pharm Sci

[Introduction] Vgll3 is a co-transcription factor and reported as an adipogenic differentiation inhibitor. Up-regulation of the gene expression induced osteoblastic gene expression. We found that the gene expression of Vgll3 was up-regulated during the tensile-stress induced osteoblast differentiation in mice cranial sutures. However, the role of Vgll3 in osteoblast differentiating is not clear. To clarify that, we investigated the expression of Vgll3 during the osteoblast differentiation. [Materials & Methods] Vgll3 localization in the stretched mice cranial sutures and in the osteoblastic cell line MC3T3-E1 was examined by immunofluorescence. Vgll3 gene expression during the osteoblastic differentiation of MC3T3-E1 was examined by real-time PCR. [Results & Conclusion] The cells in the stretched suture were elongated and the number of preosteoblasts increased at the osteogenic front. Vgll3 was detected in many of the suture cells including osteoblasts. During the osteogenic differentiation of MC3T3-E1 cells, alkaline phosphatase activity and the gene expression of Osterix, one of the key factors for osteoblast differentiation, were increased. The gene expression levels of Osterix and Vgll3, and the localization of Vgll3 in nucleus were peaked at almost the same timing during the osteoblastic differentiation. These suggest that Vgll3 has some roles in the osteoblast differentiation together with Osterix.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O1-06 骨細胞特異的ヒアルロン酸合成酵素ノックアウトマウスの解析

○森田 知里¹, 犬伏 俊博¹, 伊藤 慎将¹, 宇佐美 悠², 豊澤 悟², 山口 祐³, 山城 隆¹

¹阪大 院歯 矯正, ²阪大 院歯 口腔病理, ³サンフォードバーナムプレビス医学研

【目的】骨細胞は、骨基質内で神経細胞様の多数の細胞突起を伸ばして骨細胞間あるいは他の細胞とのネットワークを形成しており、骨代謝の中心的役割を果たしていると考えられている。近年、神経細胞が産生するヒアルロン酸が細胞外スペースの維持に重要であることが報告された。骨細胞もヒアルロン酸を合成することが明らかになっていることから、本研究ではヒアルロン酸合成酵素の骨細胞特異的ノックアウトマウスを解析することで、骨細胞の産生するヒアルロン酸の生物学的意義を明らかにすることを目的とした。【試料および方法】野生型マウス(C57BL/6)ならびにヒアルロン酸合成酵素2(以下、HAS2)の骨細胞特異的(Dmp1-Cre)コンディショナルノックアウトマウス(以下、ホモ変異型; Has2f/f:Dmp1-Cre, ヘテロ変異型; Has2f/w:Dmp1-Cre)を用いた。マウスは6週齢, 12週齢, 24週齢にて屠殺し, 固定後, マイクロCT撮影を行い大腿骨の骨密度ならびに骨体長の測定を行った。さらに, 組織学的解析を行った。【結果および考察】ホモ変異体ならびにヘテロ変異体は正常に出生し, 出生後も骨格系に明らかな表現形を示さなかった。しかし, マイクロCTを用いた形態学的解析により12週齢, 24週齢において, 野生型と比較してヘテロ変異型, ホモ変異型いずれにおいても大腿骨海綿骨密度が有意に低下していることが明らかになった。一方, 大腿骨骨体長には各群において有意差を認めなかった。また, 組織学的解析では, 皮質骨における層板構造の不整, 骨細胞数に明確な変化は見られなかった。【結論】本研究結果から骨細胞の合成するヒアルロン酸が骨細胞の機能発現に関わっていることが明らかになった。今後, ヒアルロン酸が骨細胞の機能発現に影響を与えるメカニズムについて更なる解析が必要である。本研究成果は, 骨代謝異常疾患の原因解明や新規治療法開発に寄与す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。

Osteocyte specific hyaluronic acid disruption reduced bone density in mice model

○Morita C¹, Inubushi T¹, Itoh S¹, Usami Y², Toyosawa S², Yamaguchi Y³, Yamashiro T¹

¹Dept Orthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent

²Dept Oral Pathol, Osaka Univ Grad Sch Dent

³Sanford Burnham Prebys Med Discovery Inst

Objectives: Osteocytes play central roles on bone metabolism via cell-to-cell communication networks. They synthesize hyaluronic acid, but the biological significance is unknown. This study aimed to investigate the roles of hyaluronic acid on bone metabolism by using osteocyte specific hyaluronic acid synthase 2 (Has2) conditional knockout mice. Materials and Methods: We generated osteocyte specific (Dmp1-Cre) conditional Has2 knockout mice (homozygous; Has2f/f:Dmp1-Cre, heterozygous; Has2f/w:Dmp1-Cre). At 12 or 24 weeks of age, the mice were euthanized and fixed the collected tissue samples. The length and bone density of femur were measured with micro-computed tomography images. Histological analysis was performed with hematoxylin and eosin (HE) stained sections of femur. Results: At 12 and 24 weeks, both heterozygous and homozygous mice showed significantly lower trabecular bone density at femur compared to wild type. In contrast, there was no significant difference in the length of femur. Histological assessments revealed no significant difference in the structure of lamellar bone, nor osteocyte numbers. Conclusions: Osteocytes specific deletion of Has2 in mice caused a significant reduction of bone density. This is the first study that reports the essential roles of osteocytes-produced hyaluronic acid on bone metabolism. Further research is needed to elucidate the detailing mechanisms. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

O1-07 解糖阻害は初期分化段階の初代骨芽細胞においてユビキチン-プロテアソーム系を介してアポトーシスタンパク質の発現を増加させる

○大西 智和, 千葉 紀香, 松口 徹也

鹿大 院医歯 口腔生化

【目的】未分化骨芽細胞から成熟骨芽細胞へ分化には、ATP産生のための主な代謝経路がミトコンドリアによる酸化リン酸化から解糖系への変化を伴うことが知られている。しかし、代謝経路の切り替えがなされる骨芽細胞分化初期段階において、解糖系阻害が及ぼす影響について詳細な検討はあまりなされていない。そこで、初代骨芽細胞を用い分化初期段階に解糖系を阻害しその影響を調べた。【方法】新生仔マウス頭蓋冠より初代骨芽細胞を採取し、アスコルビン酸及びβグリセロリン酸にて分化誘導を行い、培養期間によって骨分化マーカーの発現が異なったので、培養0日を『未分化』、5日を『前分化』、8日を『分化初期』そして14日を『成熟期』とした。これら様々な分化ステージの骨芽細胞に解糖系阻害薬である2-deoxyglucose (2-DG)を加えた。また、ユビキチンC (*Ubc*)のmRNA発現をリアルタイムRT-PCR法にて検出した。また、2-DGのプロテオソーム活性へ影響をSuc-LLVY-AMCを用い調べた。次に、2-DGの生存細胞数への影響をMTS法にて調べ、アポトーシスタンパク質であるBAX及びp53タンパク質の発現をウェスタンブロットにて調べた。さらに、免疫沈降法にてBAXのユビキチン化を調べた。【結果】骨芽細胞分化の初期段階では、2-DGは*Ubc* mRNA発現を減少させたが、未分化、分化幼若期、及び分化後期、骨芽細胞には変化がなかった。そして、初期分化段階の骨芽細胞においてプロテアソーム活性を減少させた。また、2-DGはBAXのポリユビキチン化を減少し、BAXやp53のタンパク質発現を増加させ、生存細胞数を減少させた。【結論】初代骨芽細胞において分化初期段階における解糖系阻害はユビキチン・プロテアソーム経路を介し、アポトーシスタンパク質であるBAXの発現を増加し、生存細胞数を減少させた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Glycolysis inhibition increases apoptotic protein expressions via ubiquitin/proteasome system in primary osteoblasts at the early differentiation stage

○Ohnishi T, Chiba N, Matsuguchi T

Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Sch Med Dent

Osteoblast differentiation is known to switch from mitochondrial oxidative phosphorylation to glycolysis as a major metabolic pathway for ATP production. However, in the early stage of osteoblast differentiation, detailed studies on the effect of glycolysis inhibition have not been conducted. First, primary osteoblasts were prepared from calvaria of neonatal mice, and differentiation was induced by ascorbic acid and β-glycerophosphate. Culture on day 0 was defined as "un-differentiation", culture on day 5 as "pre-differentiation", culture on day 8 as "early differentiation" and culture on day 15 as "mature". At various stages of differentiation, 2-deoxyglucose (2-DG) was added to primary osteoblasts. Although real-time RT-PCR revealed that 2-DG reduced *ubiquitin C (Ubc)* mRNA expression, osteoblasts did not affect its expression at the undifferentiated pre-differentiation and maturation stages. Furthermore, 2-DG reduced proteasome activity measured using Suc-LLVY-AMC. Furthermore, ubiquitination of the apoptotic protein BAX was reduced by 2-DG treatment. Related to that, BAX protein expression was increased. Finally, the MTS assay showed that 2-DG reduced the number of viable cells. In conclusion, in primary osteoblasts at the early differentiation stage, glycolytic inhibition increased the expression of the apoptotic protein BAX via the ubiquitin/proteasome pathway and decreased the number of viable cells.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O1-08 骨芽細胞の分化と細胞死におけるクォーラムセンシング因子 AHL の影響

○岡村 裕彦¹, 池亀 美華¹, 吉田 賀弥²

¹岡大 院医歯薬 口腔形態

²徳大 院医歯薬 口腔保健教育

クォーラムセンシングは、緑膿菌などグラム陰性菌がもつ細胞間コミュニケーション機構である。N-acyl Homoserine Lactone (AHL)は、クォーラムセンシングを仲介する因子であり、細菌の増殖に比例して産生量が増加する。同種・異種の細菌に対する AHL の作用に比べて、宿主細胞の機能に対する AHL の役割はよく分かっていない。今回我々は、AHL が骨芽細胞の分化や細胞死にどのような影響を及ぼすか解析した。マウス骨芽細胞株 MC3T3-E1 を分化誘導培地で培養し、様々な濃度の AHL で処理し、骨芽細胞の分化や細胞死に関するマーカーの発現や動態について調べた。低濃度 (30 μ M) の AHL は、Runx2, Osterix, BSP などの骨分化マーカーの発現増加を伴って骨芽細胞の分化を促進し、反対に高濃度 (50 μ M) の AHL は、ミトコンドリアからの cytochrome C の放出, Caspase-3 の活性化および PARP の断片化を伴うアポトーシスを誘導した。細胞内局在を解析した結果、AHL は、短時間で骨芽細胞内に取り込まれ、主にミトコンドリアと小胞体に集積することが分かった。また、AHL は、一過性の細胞内カルシウムイオンの増加を誘導したし、その変化量は AHL の濃度に依存して高かった。以上の結果から、骨芽細胞の機能に与える AHL の影響はその濃度によって異なり、細菌が増殖して AHL 濃度が高くなった状態では、骨芽細胞の分化を抑制し、骨形成を阻害すると考えられる。骨芽細胞の機能に対する AHL の相反する作用は、誘導する細胞内カルシウム濃度の違いによると考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effect of N-acyl homoserine lactone (AHL) on the metabolism of osteoblast

○Okamura H¹, Ikegame M¹, Yoshida K²

¹Dept Oral Morph, Okayama Univ Grad Sch Med, Dent Pharma

²Dept Oral Health Promot, Tokushima Univ Grad Sch

N-(acyl)-homoserine lactone (AHL), a major quorum sensing signaling molecule secreted by *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), governs numerous virulence factors expression. Bone destruction is often accompanied with unbalance between osteoblast differentiation and apoptosis. However, whether there is a connection between AHL and abnormal osteoblast metabolism is still unknown. In this study, we investigated the effects of AHL on differentiation and apoptosis in osteoblastic MC3T3-E1 cells. Firstly, 50 μ M AHL inhibited alkaline phosphatase (ALP) activity and osteogenic differentiation by suppressing the expression of Runx2, Osterix, bone sialoprotein (BSP) and osteocalcin (OCN), but 30 μ M AHL exhibited totally adverse effect which enhanced osteogenic differentiation. Secondly, AHL triggered MC3T3 cells quickly apoptosis through mitochondrial signaling pathway by activating Caspase-3 and cleaving PARP in dose dependent manner. Thirdly, AHL also targeted on endoplasmic reticulum and triggered instantaneous intracellular Ca²⁺ flush which was observed at the beginning of cell pyknosis. In conclusion, these results demonstrated that Ca²⁺ signaling change might be an upstream event of MC3T3 cells treated with AHL. The transient eruption of intracellular Ca²⁺ induced by 50 μ M AHL was a precursor of apoptosis, but moderate increase of intracellular Ca²⁺ induced by 30 μ M AHL was very likely responsible for prompting osteogenic differentiation.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O1-09 ケモカイン CCL25 が骨組織に与える影響

○高橋 拓実¹, 二宮 禎², 細矢 明宏³, 中村 浩彰⁴, 雪田 聡⁵

¹静岡大 院農 応用生命化学, ²日大 歯 解剖, ³松歯大 院総歯研 硬組織形態解析, ⁴北医療大 歯 組織, ⁵静岡大 院 教育(理科)

【背景】CCL25 (TECK) は胸腺や小腸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 を介したリンパ球の誘引により免疫の発達に関与していることが知られている。培養細胞を用いた研究では、骨芽細胞が CCL25 を分泌し、破骨細胞には CCR9 が発現していることが報告されているが、個体レベルの骨組織形成についての役割はほとんど明らかになっていない。当グループで *Ccl25* 遺伝子を全身で欠損したマウス (*Ccl25*KO マウス) と野生型マウスとを骨形態計測により比較した結果、欠損マウスにおいて骨量、骨梁数、骨梁幅の有意な増加と骨梁間隙の有意な低下を認めた (第 60 回歯科基礎医学会学術大会)。本発表では *Ccl25*KO マウスについてさらに詳細な検討を加えたので報告する。【方法】10 週齢の野生型および *Ccl25*KO マウスの脛骨を採取し、パラフィン包埋後に薄切切片を作成した。骨形成能を検討するため、ヘマトキシリンエオシン (HE) 染色し骨芽細胞数を計測した。また、アルカリホスファターゼ (ALP) 抗体を用いた免疫組織学的にタンパク局在を検討した。さらに、血清中の Gla 型オステオカルシン濃度を ELISA 法により測定した。骨吸収能の検討のため、酒石酸抵抗線酸性ホスファターゼ (TRAP) 染色により破骨細胞数を計測した。【結果と考察】HE 染色の結果、有意な骨芽細胞数の増加は認められなかったが、ALP 局在を示すシグナルは KO マウスで著明に増強し、血中 Gla 型オステオカルシン濃度も優位に増加していた。一方で、TRAP 染色の結果、破骨細胞数には大きな差異は認められなかった。以上の結果から、*Ccl25*KO マウスでは骨形成能が活性化し骨吸収には影響がないため、骨量が増加したと考えられた。現在、培養細胞を用いた実験やカルセインラベルによる骨形成速度の計測を行っているので、その結果も併せて発表したい。(非学会員共同研究者：岩本莉奈、茶山和敏) 【利益相反】利益相反状態にはありません。

The effect of chemokine CCL25 on bone tissue

○Takahashi T¹, Ninomiya T², Hosoya A³, Nakamura H⁴, Yukita A⁵

¹Lab Animal Phys and Bio, Shizuoka Univ Grad Sch Agri, ²Dept Anat Nihon Univ Sch Dent, ³Div Hard Tissue Res, Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, ⁴Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ⁵Dept Educ (Sci), Shizuoka Univ

CCL25, a chemokine expressed in thymus and intestine, is known to be important for development of immuno system. Although a previous study using cultured cell lines shows that osteoblasts secretes CCL25 and osteoclasts expresses CCR9 which is a receptor for CCL25, the function of CCL25 and CCR9 in bone metabolism remains unclear. Previously, we have demonstrated that *Ccl25* deficient mouse shows increased trabecular bone volume and trabecular number. In this presentation, we will report precise bone phenotype in *Ccl25* deficient mouse. We firstly counted osteoblast number in tibia from wild type and *Ccl25* deficient mouse, however, there is no obvious difference in the number. On the other hands, strong immunoreactivity for tissue nonspecific alkali phosphatase (ALP) was observed in tibia from *Ccl25* deficient mouse. Further, level of serum osteocalcin, a specific marker for bone formation is higher in *Ccl25* deficient mouse. To evaluate bone resorption activity, we counted number of Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) positive osteoclasts in tibia. As a result, the number of osteoclasts was almost same between wild type and *Ccl25* deficient mouse. In conclusion, our DATA suggest that CCL25 may negatively regulate the bone formation activity, while it have no effect on bone resorption.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-01 咬合異常マウスの咬筋筋肥大効果における miRNA の役割

○梅木 大輔¹, 大貫 芳樹², 伊藤 愛子¹, 八木澤由佳¹, 吹田 憲治², 石川美佐緒³,
友成 博¹, 奥村 敏²

¹鶴大 歯 矯正, ²鶴大 歯 生理, ³鶴大 歯 口腔解剖

【目的】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。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。近年、骨格筋の可塑性に miRNA が関与することが報告され注目を集めている。我々はこれまで、咬合異常マウス（以下 BO）による機械的刺激の増大が咬筋の肥大と筋活動の亢進を誘発することを報告してきた。今回、機械的刺激の増大による咬筋筋肥大における miRNA の役割についてマウス咬筋を用いて解析した。【方法】10w 齢の C57BL/6 雄性マウスを、対照群（Control n=5）、BO 群（下顎切歯に咬合拳上板装着 n=5）に分けた。2 週間後に咬筋を摘出して筋重量測定後、BO が咬筋に与える影響を組織学的ならびに生化学・分子生物学的手法を用いて解析した。【結果】(1)BO 群では、咬筋の筋線維断面積(CSA)と筋重量の増加を認めた。(2)BO 群では、miR-182, miR-206 の発現レベルの上昇を認めた。(3)Western blotting の結果より、BO 群では筋萎縮因子である HDAC4, Foxo3a の発現レベルの有意な減少が認められた。【考察】以上の結果より、BO による miR-182 および miR-206 の発現レベルの上昇が HDAC4, Foxo3a の発現レベルを減少させることによってマウス咬筋筋重量の増加と筋線維の肥大を誘発することが示唆された。本研究は JSPS 科研費、若手研究(B) JP 26861803 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。

Role of miRNA in mouse masseter muscle hypertrophy effect by enforced bite opening

○Umeki D¹, Ohnuki Y², Ito A¹, Yagisawa Y¹, Suita K², Ishikawa M³, Tomonari H¹,
Okumura S²

¹Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent, ²Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent, ³Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent

Objectives: Masticatory muscles have the potential to adapt their mass and fiber types to a wide range of functional demands. To gain more insight into the mechanisms of masticatory muscle adaptation, we analyzed the roles of miRNA in mouse masseter muscle hypertrophy induced by enforced bite opening (BO). Methods: Male mice (C57BL/6), aged 10 weeks, were divided into two groups: Control and BO (1 mm increase in the vertical dimension) groups. After 2 weeks of each treatment, we measured both the muscle weight and cross-sectional area (CSA) in order to evaluate hypertrophic effect of BO masseter muscles. In addition, we analyzed micro RNA expression levels using a real-time RT-PCR. We also studied the activities of hypertrophic signaling with a western blot analysis. Results: (1) The CSA was significantly ($p < 0.01$) increased in the BO group. (2) The BO treatment significantly ($p < 0.05$) increased miR-182 and miR-206. (3) Significantly decreases ($p < 0.05$) in HDAC4 and Foxo3a expression levels were observed in the BO group. Conclusion: These results suggest that BO induced upregulation of miR-182 and miR-206 decreases the expression levels of HDAC4 and Foxo3a, resulting in masseter muscle hypertrophy in mice. This work was supported by JSPS Grant-in-Aid for Young Scientists (B) Number JP 26861803

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-02 咬合異常モデルにおける心臓リモデリングと β アドレナリン受容体遮断薬による抑制効果

○八木澤由佳¹, 大貫 芳樹², 梅木 大輔¹, 吹田 憲治², 伊藤 愛子¹, 早川 佳男³,
松尾 一郎⁴, 中村 芳樹¹, 友成 博¹, 奥村 敏²

¹鶴大 歯 矯正, ²鶴大 歯 生理, ³鶴大 歯 麻酔, ⁴鶴大 歯 歯周病

【目的】咬合異常などの口腔内のストレスと心血管系疾患との関連が疫学調査研究から示唆されているが分子レベルでの解析は不十分である。本研究では「マウスの切歯にレジンを装着し、実験的に咬合障害を生じさせた咬合異常(Bite-opening; BO 群)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、その検証を行った。【方法】16週齢の雄性C57BL6マウスを1) Control 群, 2) BO 群, 3) β 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、Masson-trichrome 染色で線維化, TUNEL 染色で心筋細胞のアポトーシス, 8-OHdG 染色で心筋細胞の酸化ストレスの定量評価を行った。さらにウエスタンブロッティング法にて関連因子のシグナル解析を行った。【結果】心筋組織の線維化, 心筋細胞のアポトーシスならびに酸化ストレスは Control 群に比較して BO 群で有意な増加が見られた。シグナル解析では Control 群に比較して BO 群で Bax の亢進が確認され, Pro の併用投与でその増加は抑制された。一方, Control 群に比較して BO 群で Bcl-2 の減少が確認されたが, Pro の併用投与でその減少は抑制された。また, 心臓リモデリング発症で重要性が指摘されている, 筋小胞体での Ca²⁺ の取り込みに欠かせないホスホランバンのリン酸化は BO 負荷で有意に増加したが, その増加は Pro の併用投与で抑制された。【結論】咬合異常などの口腔内のストレスは自律神経調節機構の破綻と交感神経の慢性刺激状態を誘導して心筋組織の線維化と心筋細胞のアポトーシスと酸化ストレスを引き起こし, 心疾患発症の危険因子に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。

Cardiac remodeling caused by occlusal disharmony and its inhibition by co-administration of beta blocker

○Yagisawa Y¹, Ohnuki Y², Umeki D¹, Suita K², Ito A¹, Hayakawa Y³, Matsuo I⁴,
Nakamura Y¹, Tomonari H¹, Okumura S²

¹Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ²Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁴Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Occlusal disharmony has been suggested to increase sympathetic activity and increase the onset of heart disease. However, the mechanism has not been understood yet. On the other hand, chronic activation of sympathetic activity is known to cause heart failure. We thus hypothesized that BO-mediated increase of sympathetic activity 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, 3) propranolol (Pro) (via the drinking water containing 1g/L), and 4) Pro + BO. After 2 weeks, we examined BO-mediated cardiac remodeling such as fibrosis and apoptosis. We also examined signal transduction by immunoblot analysis. The fibrosis area examined by Masson-trichrome staining and the number of TUNEL and 8-OHdG positive cardiomyocyte in the BO-group was significantly increased, compared to the Control but this increase was suppressed by the co-treatment of propranolol. The amount of Bax was significantly increased in BO-group, compared to the Control. The phosphorylation level of phospholamban was significantly increased in the BO-group than the Control and this increase was suppressed by the co-treatment of propranolol. These results suggest that BO might induce cardiac diseases via activation of sympathetic activity.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-03 *Porphyromonas gingivalis* 由来の LPS による心機能障害とベータアドレナリン受容体シグナルとの関連性

○松尾 一朗

鶴大 歯 歯周病

[目的]近年歯周病による交感神経系活性化が心疾患発症を引き起こしている可能性が臨床研究等で示唆されている。しかしながらその分子生物学的作用機序は解明されていない。本研究では歯周病患者の血液中に通常検出されるレベルと同等の低用量の *Porphyromonas gingivalis* 由来 Lipopolysaccharide (PG-LPS) を投与した歯周病マウスモデルを作成し「歯周病の慢性的・持続的の刺激が交感神経系の慢性刺激状態を引き起こし心筋リモデリングが誘発される」という仮説を立てその検証を行った。[方法]マウス (C57BL/6/J オス 12 週令) を用いて、1) PBS 投与群 (Control 群), 2) PG-LPS (0.8 mg/kg/day: 腹腔内投与) 投与群 (LPS 群), 3) ベータ遮断薬 (プロプラノロール) 投与群 (1g/L: 経口投与: PPL 群), 4) LPS と PPL の併用投与群 (PPL + LPS 群) を作成した。投与開始から 7 日後に吸入麻酔下で心エコーを用いて心機能測定を行った。実験終了後に心臓を摘出し心筋線維化領域、アポトーシス陽性細胞率の組織学的評価、ウェスタンブロッティング法にて分子生物学的評価を行った。[結果] 1) Control 群に比較して LPS 投与群では心機能は有意に低値を示した。しかしながら PPL を併用群では、LPS による心機能の低下が有意に抑制された。2) Masson-trichrome 染色による心筋線維化領域・TUNEL 染色による心筋アポトーシス陽性細胞率は LPS 群では有意に増加したが PPL 併用群では有意に抑制された。3) 心臓リモデリング発症における重要性が指摘されている筋小胞体の Ca²⁺ の取込みに重要なホスホランバン (PLN: Thr-17, Ser-16) のリン酸化は LPS 投与群で有意に増加したが、その増加は PPL 併用群で抑制された。[結論] PG 菌由来の LPS による心機能障害に対してベータ遮断薬 (プロプラノロール) は保護的に作用した。以上の結果は歯周病が交感神経系の慢性刺激状態を引き起こす事で心筋リモデリングが誘発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。

The association of beta-adrenergic receptor signaling plays on cardiac dysfunction induced by LPS derived from *Porphyromonas gingivalis*

○Matsuo I

Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent

Recently, clinical studies suggest that periodontitis induced activation of sympathetic nervous systems (SNS). although the molecular mechanism remains unclear. The aim of the study was to investigate the *Porphyromonas gingivalis* (PG-LPS) chronic stimulations activation SNS might induce cardiac remodeling in mice. Mice (C57BL/6) were injected with PG-LPS (4 mg/kg/day) for 1 weeks. Mice were divided into four groups: 1) Control, 2) PG-LPS, 3) Propranolol, (PPL) (via the drinking water containing 1g/L), and 4) PPL + PG LPS. We examined cardiac function by echocardiography more over fibrosis, apoptosis, by histological analysis, and western blot analysis. Left ventricular ejection function (LVEF) was significantly decreased by the treatment of PG-LPS. However, co-treatment of PPL suppressed the decrease of PG-LPS-mediated cardiac dysfunction. The area of fibrosis by Masson-trichrome staining and the number of TUNEL positive cardiomyocyte in the LPS-group was significantly increased, although co-treatment of PPL suppressed the decrease of PG-LPS-mediated cardiac remodeling. The phosphorylation level of phospholamban was significantly increased in LPS than control. Also this increase was suppressed by the co-treatment with propranolol.

Conflict of Interest: The author declares no conflict of interest.

O2-04 骨格筋細胞の分化が β アドレナリン受容体の発現量に及ぼす影響とその生理学的役割

○伊藤 愛子¹, 大貫 芳樹², 梅木 大輔¹, 吹田 憲治², 石川美佐緒³, 八木澤由佳¹,
中村 芳樹¹, 友成 博¹, 奥村 敏²

¹鶴大 歯 矯正, ²鶴大 歯 生理, ³鶴大 歯 解剖 I

アドレナリン受容体 (β -AR) の生理学的役割に関する研究の大部分は心筋を用いた解析で骨格筋での解析は少ない。特に筋分化と β -ARの発現に関する報告はない。本研究では筋分化と β -ARとの関連について *in vitro* ならびに *in vivo* で解析を行った。【方法】マウス筋芽細胞(C2C12)をウシ血清(10%)培地からウマ血清(2%)培地に変更して分化を誘導した。さらに β -ARのサブタイプ特異的な役割を解明するためクレンブテロール, CB (β_2 -AR 特異的作動薬; 10^{-4} M) ならびにドブタミン DOB (β_1 -AR 特異的作動薬; 10^{-4} M) 刺激のアポトーシス誘導効果をヨウ化プロピジウム (PI) 染色とウェスタンブロッティングで評価した。C2C12 細胞での再現性を *in vivo* で評価するため, DOB (2 mg/kg/day) または CB (2 mg/kg/day) を 7 日間投与したマウスから咬筋を摘出して組織学的解析を行った。【結果】C2C12 細胞での β_1 -AR, β_2 -AR の発現量は分化誘導後 5 日目ですべてのサブタイプも最大になった。また分化した C2C12 細胞への DOB 刺激は PI 染色陽性アポトーシス細胞ならびに Caspase-8 の発現量を有意に増加させたが, CB 刺激は Control 群と有意差を示さなかった。摘出咬筋の TUNEL 染色の解析においても, DOB 投与群ではアポトーシス陽性細胞の割合を有意に増加させた。Caspase-8 の発現量の増加以外の DOB のアポトーシス誘発機序を解明するため, 筋細胞周囲の微小血管数を Dystrophin と CD31 の二重免疫染色で定量評価したところ筋線維あたりの血管数が DOB 群で有意に低下していた。【結論】筋分化により β -AR のサブタイプ (β_1 , β_2) はいずれも発現量が増加すること, β_1 -AR シグナルの活性化は骨格筋細胞のアポトーシス誘発効果を示す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。

Effects of myocyte differentiation on β -adrenergic receptor expression and its physiological roles

○Ito A¹, Ohnuki Y², Umeki D¹, Suita K², Ishikawa M³, Yagisawa Y¹, Nakamura Y¹,
Tomonari H¹, Okumura S²

¹Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ²Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Despite extensive studies about the β -adrenergic signaling (β -AR) in cardiac muscle, the roles of β -AR signaling in skeletal muscle are not fully understood. Therefore, we tried to examine the effects of β_1 - or β_2 -AR stimulation with DOB (β_1 agonist) or CB (β_2 agonist) in murine myoblast C2C12 cells as well as in C57BL/6 mice *in vivo*. We first examined the effects of myocyte differentiation on β -AR expression in C2C12 cells and confirmed that β_1 - and β_2 -AR expression increased similarly and reached maximum on Day-5 after induction of myocyte differentiation. We next examined the effect of DOB or CB on apoptosis using C2C12 cells and confirmed that DOB might induce myocyte apoptosis. To confirm the reproducibility *in vivo*, we performed chronic DOB or CB infusion in mice and confirmed that DOB might also induce myocyte apoptosis in masseter muscle. Angiogenesis and apoptosis are known to be closely associated in skeletal muscle. We thus examined the number of microvessels per masseter myocyte by double-immunostaining for dystrophin and CD31, which was significantly decreased in the DOB group. These data indicate that myocyte differentiation plays a pivotal role for the β -AR expression and β_1 -AR signaling is important for the development of myocyte apoptosis.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-05 口腔のストレスに起因する心疾患に対する抗ヘルペス薬（ビダラビン）の予防効果

○早川 佳男¹, 大貫 芳樹², 吹田 憲治², 石川美紗緒³, 伊藤 愛子⁴, 川村 直矢⁵,
八木澤由佳⁴, 松尾 一郎⁵, 河原 博¹, 奥村 敏²

¹鶴大 歯 麻酔, ²鶴大 歯 生理, ³鶴大 歯 解剖 I, ⁴鶴大 歯 矯正, ⁵鶴大 歯 歯周病

【背景】咬合異常などの口腔内のストレス増加による交感神経の慢性的な活性化は、心疾患を惹起させる因子の1つとして注目されている。先行研究より抗ヘルペス薬としてヒトへの投与が認可されているビダラビンは、心臓型(5型)アデニル酸シクラーゼ(AC)阻害作用をもつことを報告している。そこで我々は口腔ストレスに起因する心疾患に、ビダラビンは有用な治療薬になると考えた。**【目的】**マウス咬合異常(Bite-opening:BO)モデルでは、BOによる口腔のストレスに起因する慢性交感神経刺激状態により心機能障害が誘導される。本研究ではBOモデルに心臓型AC遮断薬(ビダラビン)を併用投与するとその効果が抑制されるという仮説をたて、本仮説の検証を試みた。**【方法】**雄16週齢のC57BL/6マウスを1)コントロール(CTRL)群, 2)BO群, 3)ビダラビン投与群(15 mg/kg/day), 4)BO+ビダラビン投与群の4群に分けた。実験開始日より13日目に心エコーにて心機能評価を行い、14日目心臓を摘出し、臓器重量測定後組織学的手法を用いてBOに起因する心臓線維化ならびに心筋細胞のアポトーシスに及ぼす影響とビダラビンによる抑制効果を検討した。**【結果】**1)心機能(心拍出量)は、CTRL群に比較してBO群で有意に低下していたが、その効果はビダラビンの併用投与で有意に抑制された($P < 0.05, n = 4-5$)。2)線維化領域の割合はBO群ではCTRL群に比較して有意な増加が見られたが、その効果はビダラビンの併用投与で有意に抑制された($P < 0.05, n = 4-5$)。3)アポトーシス陽性心筋細胞の割合はCTRL群に比較してBO群では有意な増加傾向が見られ、その効果はビダラビン投与で有意に抑制された($P < 0.05, n = 4-5$)。**【結語】**口腔のストレスにより惹起された心機能障害に対してビダラビンは有用な治療薬に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。

Cardiac remodeling caused by enforced bite-opening and its inhibition by co-administration of a cardiac AC blocker (vidarabine)

○Hayakawa Y¹, Ohnuki Y², Suita K², Ishikawa M³, Ito A⁴, Kawamura N⁵, Yagisawa Y⁴,
Matsuo I⁵, Kawahara H¹, Okumura S²

¹Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ²Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁴Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁵Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Chronic activation of sympathetic nerve activity induced by oral stress has been noted as one of the factors leading to cardiovascular diseases. Vidarabine, an anti-herpes drug, was recently reported to have inhibitory effects on cardiac-type (type 5) adenylyl cyclase (AC). We thus hypothesized that vidarabine might be useful for the treatment of cardiovascular disease induced by bite-opening (BO). Mice were divided into four groups: 1) Control (CTRL), 2) BO, 3) Vidarabine, and 4) BO + Vidarabine. We first examined the effects of BO on cardiac function and found that it was significantly smaller in BO-group than in the Control ($P < 0.05, n = 4-5$). We next examined the effects of BO on cardiac fibrosis by Masson-trichrome staining and cardiac myocyte apoptosis by TUNEL staining. We found that cardiac fibrosis area and the number of apoptotic myocyte in the BO-group were significantly greater than in the Control ($P < 0.05, n = 4-5$). More importantly, these increases induced by BO were suppressed by the co-treatment of Vidarabine. These data indicated that Vidarabine might be useful for the treatment of cardiovascular diseases induced by oral stress such as occlusal abnormality.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-06 短鎖脂肪酸誘導歯肉上皮細胞死にはヒストンアセチルトランスフェラーゼ活性優位の状況が必要である

○津田 啓方, 鈴木 直人

日大 歯 生化

我々はこれまでに歯周病原細菌の培養上清がヒト歯肉上皮 Ca9-22 細胞株の細胞死を引き起こし、その細胞死に伴い、関節リウマチ等の自己免疫疾患発症における自己抗体産生に重要と考えられている peptidyl-arginine deiminases 等が細胞外に放出されることを報告してきた。そして、これまでに歯周病原細菌培養上清中には様々な短鎖脂肪酸が高濃度に存在し、その中でも酪酸、プロピオン酸、イソ酪酸、イソ吉草酸が強いオートファジー依存性の細胞死を誘導することが解っている。本研究では、短鎖脂肪酸によって誘導されるヒト歯肉上皮細胞死の起こるメカニズムを探ることを目的とした。酪酸はヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 阻害剤であることから、Ca9-22 細胞を酪酸の代わりに他の HDAC 阻害剤である SAHA や Valproic acid で処理してみたところ、濃度依存的に細胞死が引き起こされた。次に、歯周病原細菌の培養上清に含まれている短鎖脂肪酸それぞれで Ca9-22 細胞を処理すると、酪酸、プロピオン酸、イソ酪酸、イソ吉草酸、および酢酸処理によりヒストン H3 のアセチル化が強く亢進され、ギ酸、コハク酸、乳酸による処理ではヒストン H3 の強いアセチル化は誘導されないことが確認された。さらに、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ (HAT) 阻害剤 C646 による処理により、酪酸誘導のヒストンアセチル化および酪酸誘導細胞死は C646 濃度依存的に抑制された。これらの事より、HDAC の抑制、つまり、HAT 活性が優勢の状況が少なくとも酪酸誘導細胞死において重要であることが解った。しかしながら、酢酸処理ではヒストン H3 のアセチル化の亢進は起こるものの、細胞死は誘導されない。これらの事から、短鎖脂肪酸誘導細胞死には HAT 活性が優勢であることが必要条件であるが十分条件ではない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。

Dominance of histone acetyltransferase is required for induction of short-chain fatty-acid-induced death of human gingival epithelial Ca9-22 cells

○Tsuda H, Suzuki N

Dept Biochem, Nihon Univ Sch Dent

We previously found that treatment with culture supernatants of periodontopathic bacteria of human gingival epithelial Ca9-22 cells induces cell death and release of peptidyl-arginine deiminases, which is necessary for autoantibody production in the onset of autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis. In addition, it is reported that various short-chain fatty acids are present in high concentrations in periodontopathogenic bacterial culture supernatants. Among them, butyrate, propionate, isobutyrate, and isovalerate induce strong non-apoptotic type of cell death. Butyrate is a famous histone deacetylase inhibitor. Therefore, we treated Ca9-22 cells with other HDAC inhibitors, SAHA and valproic acid. These HDAC inhibitors induced cell death accompanying histone H3 acetylation. We next examined HDAC-inhibitory action of each short chain fatty acid contained in bacterial supernatants and found that treatments with butyrate, propionate, isobutyrate, isovalerate, and acetate strongly induced acetylation of histone H3. Furthermore, Ca9-22 cells pretreated with C646, a histone acetyltransferase inhibitor, exhibited reduced the amount of butyrate-induced cell death and the acetylation level of histone H3. These data indicate that dominance of HAT activity is needed to induce cell death by butyrate treatment on Ca9-22 cells.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-07 トランスクリプトーム解析による短鎖脂肪酸誘導細胞死の誘導メカニズムの探索

○室伏 貴久, 津田 啓方, 鈴木 直人

日大 歯 生化

我々はこれまで、歯周病病原細菌が産生する短鎖脂肪酸のうち、酪酸、プロピオン酸、イソ酪酸、イソ吉草酸が歯肉上皮由来株化細胞である Ca9-22 細胞の細胞死を引き起こし、それに伴い damage-associated molecular patterns (DAMPs) や関節リウマチにおける自己抗体産生に関与していると考えられている peptidyl arginine deiminase (PAD)4 が細胞外に放出されること、および、これらの短鎖脂肪酸が歯周組織の炎症や関節リウマチ発症に貢献している可能性についての報告を行ってきた。これらの短鎖脂肪酸誘導の細胞死は、オートファジー進行に必要な ATG5 のノックダウンにより抑制されることから、オートファジー依存性細胞死であることがこれまでに分かっている。本研究では、これらの短鎖脂肪酸誘導細胞死の細胞内分子メカニズムを探ることを目的とした。まずは、細胞死を誘導する短鎖脂肪酸のうち、最も細胞死誘導能の強い酪酸を Ca9-22 細胞に作用させ、DNA マイクロアレイ解析を行ったところ、作用 4 時間および 16 時間で多くのオートファジー関連遺伝子の発現に影響があった。また、アポトーシス誘導に関与するカスパーゼやネクロトーシス誘導関連遺伝子の発現に影響があった。さらに、酸化ストレス応答 KEAP1-NRF2 系に関わる遺伝子及び様々な小胞体ストレス関連遺伝子の発現にも影響があったことから、産生される活性酸素量を調べたところ、短鎖脂肪酸の作用により活性酸素産生が誘導されることがわかった。活性酸素スカベンジャーである N-acetylcysteine およびアスコルビン酸を作用させると、短鎖脂肪酸誘導細胞死は抑制された。これらの結果から、短鎖脂肪酸誘導細胞死にはオートファジーだけでなく、活性酸素産生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。

Transcriptome analysis of the effect of short-chain fatty acids on gingival epithelial cell death

○Murofushi T, Tsuda H, Suzuki N

Dept Biochem, Nihon Univ Sch Dent

We have reported that a certain kind of short-chain fatty acid produced by periodontopathic bacteria induces autophagy-dependent death on gingival epithelial Ca9-22 cells. In addition, the death is accompanied by release of damage-associated molecular patterns (DAMPs) and molecules related to autoantibody generation during rheumatoid arthritis development, such as peptidyl arginine deiminase (PAD) 4 and citrullinated proteins. The objective of the present study is to elucidate the molecular mechanisms of gingival epithelial cell death induced by short-chain fatty acid treatment. We first treated Ca9-22 cells with butyrate, a short chain fatty acid which cause the strongest cell death, and subsequent transcriptome analysis was performed. During the treatment, many genes related to autophagy were upregulated. In addition, butyrate treatment affected to levels of genes which have relationships to apoptosis or necroptosis. Furthermore, since expression levels of genes related to oxidative-stress response and endoplasmic reticulum stress were affected by butyrate-treatment, we demonstrated the effect of reactive oxygen species (ROSs) scavenger on butyrate-induced cell death. ROS scavengers dose-dependently decreased butyrate-induced dead cells, indicating that stress inducing ROSs may be important for gingival epithelial cell death induced by butyrate.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-08 セメント芽細胞における Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネル発現

○鎌田 聡仁¹, 東川明日香², 木村 麻記², 井上 博之³, 大山 定男², 大房 航²,
澁川 義幸², 山下秀一郎¹

¹東歯大 パーシャル補綴, ²東歯大 生理, ³東歯大 麻酔

【目的】セメント芽細胞は硬組織形成細胞であり、根部セメント質を形成する。細胞膜を介するイオン移動に伴う細胞膜シグナル伝達は、多くの細胞過程を調節しているにもかかわらず、ヒトセメント芽細胞のイオンチャネル発現についての報告はない。そこで、ヒト由来セメント芽細胞から細胞膜イオン電流記録を行い、電位依存性イオンチャネル発現を検討した。【方法】セメント芽細胞 (HCEM) に whole-cell patch-clamp 法を用いて、全細胞膜イオンチャネル電流を計測した。標準細胞外液 (標準 ECS) は Krebs 溶液とした。標準細胞内液 (標準 ICS) として、140 mM KCl, 10 mM NaCl, 10 mM HEPES (pH7.2) の溶液を用いた。標準 ICS の K^+ を等モル濃度で Cs^+ に置換した細胞内液 (Cs -ICS) および標準 ECS/ICS から K^+ と Cl^- を等モル濃度で Cs^+ と gluconate⁻ にそれぞれ置換した溶液 (Cs -gluc-ECS/ICS) を作成した。また、試薬として非選択的 K^+ チャネルブロッカーである TEA および Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネルブロッカーである IbTX, apamin を使用した。【結果と考察】標準 ECS/ICS 下で保持電位 (V_h)-70 mV から 10 mV ごとに電位変化を与えたところ、外向き電流が記録された。Cs-ICS 下で同様の脱分極刺激を行ったところ、外向き電流はほぼ消失した。ECS/ICS 下で TEA を投与 (10 mM) すると、外向き電流の電流密度 (pA/pF) が可逆的に減少した。同様に IbTX を投与 (0.1 μM) すると、外向き電流の電流密度が可逆的に減少した。しかし、apamin の投与 (500 μM) では、外向き電流の電流密度の減少はみられなかった。このことから HCEM には Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネルが発現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。

Expression of Ca^{2+} - activated K^+ channels in human cementoblast

○Kamata S¹, Higashikawa A², Kimura M², Inoue H³, Oyama S², Ofusa W², Shibukawa Y², Yamashita S¹

¹Dept Removable Partial Prosthodont, Tokyo Dent Coll, ²Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, ³Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll

< purpose > Cementoblasts are cementum forming cells. Although transmembrane signaling associated with ionic transport regulates various physiological processes of the cells, there is no report on the expression of ionic channels in human cementoblasts. The present study investigated functional expression of ionic channels in human cementoblast cell line (HCEM) by recording membrane currents. < Materials & Methods > We measured ionic currents using whole-cell patch-clamp recording. Krebs solution was used as a standard extracellular solution (ECS). Standard intracellular solution (ICS) was composed followings (in mM) ;140KCl, 10NaCl and 10HEPES. we prepared solution by equimolarly replacing K^+ in the ICS with Cs^+ (Cs -ICS). As reagents, non-selective K^+ channel blocker TEA and Ca^{2+} activated K^+ channel blocker IbTX, apamin were used. < Results & Conclusion > Depolarizing steps from holding potential (V_h) of -70 mV with 10 mV intendments evoked outward currents under the ECS/ICS condition. When the same depolarization stimulation was performed under the Cs-ICS, the outward current almost disappeared. When TEA and IbTX were administered under the ECS/ICS, the current density of the outward current reversibly decreased. However, apamin administration, the current density of the outward current did not decrease. This suggests HCEM expresses Ca^{2+} activated K^+ channel.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-09 Gli1 陽性歯根膜細胞は幹細胞特性を有し、歯槽骨再生に寄与する

○Shakehin Nazmus¹, 細矢 明宏¹, 建部 廣明¹, 溝口 利英², 吉羽 永子³, 吉羽 邦彦⁴,
中村 浩彰⁵, HASAN Md Riasat¹, 入江 一元¹

¹北医大 歯 組織, ²東歯大 口科研, ³新潟大 院医歯 う蝕, ⁴新潟大 院医歯 口腔保
健, ⁵松歯大 口腔解剖 II

Gli1-positive periodontal ligament cells possess stem cell properties and contribute to alveolar bone regeneration

○Shelehin N¹, Hosoya A¹, Takebe H¹, Mizoguchi T², Yoshida N³, Yoshida K⁴, Nakamura H⁵,
Hasan M¹, Irie K¹

¹Dept Histol, Health Sci Univ Hokkaido, ²Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll, ³Div Oral Sci
Health Promotion, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁴Div Oral Sci Health Promotion, Niigata
Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁵Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ

[Purpose] The periodontal ligament contains stem cells that are able to differentiate into osteoblasts, cementoblasts, and fibroblasts. However, the characteristics and distribution of these cells remain uncertain. Gli1, an essential hedgehog signaling transcription factor, functions in undifferentiated cells during embryogenesis. Therefore, in the present study, to characterize the undifferentiated cells in the periodontal ligament, the localization pattern and the differentiation ability of Gli1-positive cells were examined using a lineage-tracing system. [Materials & Methods] (1) Gli1-CreERT2/ROSA26-loxP-stop-loxP-tdTomato (iGli1/Tomato) mice were generated and administrated Tamoxifen for 2 days at 4 and 8 weeks of age. At 0- 28 days after the final administration, the distribution of Gli1/Tomato-positive cells in periodontal tissues was determined. (2) Gli1/Tomato-positive- and Gli1/Tomato-negative- cells were harvested from the periodontal ligament of 8-week-old iGli1/Tomato mice. To analyze whether Gli1-positive cells have clonogenic and multilineage potentials, these cells were subjected to CFU-F and differentiation assays for osteoblasts, chondrocytes, and adipocytes. (3) To observe the differentiation ability of Gli1-positive cells during alveolar bone regeneration, the first maxillary molars of iGli1/Tomato mice, which had received Tamoxifen for 2 days, were extracted and transplanted into the hypodermis of wild-type mice. After 5 and 28 days, the teeth were excised with surrounding connective tissues and processed histologically. [Results & Conclusion] (1) In 4-week-old mice, Gli1/Tomato-positive cells were barely detected in the periodontal ligament, around Endomucin-expressing blood vessels. These cells had proliferated over time, localizing in the periodontal ligament as well as on the bone and cementum surfaces for 28 days. However, in 8 week-old-mice, Gli1/Tomato-positive cells were quiescent, as evidenced by the fact that most cells did not show immunoreactivity for Ki-67. (2) Gli1/Tomato-positive cells in the periodontal ligament exhibited high CFU-F activity and were capable of osteogenic, chondrogenic, and adipogenic differentiation in vitro. In contrast, Gli1/Tomato-negative cells did not show differentiation abilities. (3) At 5 days after transplantation, the tooth root was surrounded by connective tissue and Gli1/Tomato-positive cells were observed only near the tooth root and exhibited Osterix- and Ki67-immunoreactivity. At 28 days, the alveolar bone had been regenerated apart from the tooth root. Tomato florescence indicating progeny of Gli1-positive cells was detected in the osteoblasts and osteocytes of the regenerated bone. In conclusion, Gli1-positive periodontal ligament cells are identified as mesenchymal stem cells with self-renewal ability and trilineage differentiation potential. Our results also suggest that these cells contribute to the formation of periodontal tissue and can regenerate alveolar bone.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-10 機械・活性酸素種感受性 TRPA1 チャンネルは歯の移動に伴う疼痛発症に関与する

○森井 葵^{1,2}, 宮村 侑一^{1,3}, 人見 涼露¹, 鹿山 武海^{1,4}, 氏原 泉¹,
左合-伊藤 美紗², 郡司掛香織², 川元 龍夫², 小野堅太郎¹

¹九歯大 歯 生理, ²九歯大 歯 顎口腔機能矯正, ³九歯大 歯 放射線, ⁴九歯大 歯 歯周病

矯正治療中の歯の移動により多くの患者は疼痛を感じるが、その発生機序は依然として不明である。本研究では、歯根膜への持続的な圧迫により増加した活性酸素種 (ROS) が機械侵害受容器である TRPA1 を活性化する可能性について検討した。実験的歯牙移動モデルとして、雄性 Wistar 系ラットの上顎右側第一臼歯と同側切歯間に Ni-Ti コイルスプリングを装着し、50 gf の矯正力を負荷した。TRPA1 アンタゴニストまたは ROS スカベンジャーを腹腔内投与し、疼痛関連行動であるラビング時間を測定した。ROS によって生じた歯根膜での酸化ストレスを評価するために、歯根膜切片を作製し、酸化的 DNA 損傷の指標である抗 8-OHdG 抗体を用いて免疫染色を行った。また、神経線維マーカーの抗 PGP9.5 抗体と抗 TRPA1 抗体による二重蛍光免疫染色を行った。三叉神経節ニューロンでの浸透圧機械刺激に対する過酸化水素 (ROS の一種) の影響をカルシウムイメージング法により解析した。実験的歯牙移動モデルにおいて延長した疼痛関連行動は TRPA1 アンタゴニストおよび ROS スカベンジャーにより有意に抑制された。実験側歯根膜は、対照側と比較して抗 8-OHdG 抗体により濃染された。TRPA1 陽性線維は PGP9.5 と共染色された。過酸化水素により増強した浸透圧機械刺激に対するカルシウム応答は、TRPA1 拮抗薬により抑制された。これらの結果より、歯の移動に伴い歯根膜で発生した ROS が、神経線維に発現している TRPA1 の機械感受性を感作することで疼痛を発症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。

Mechanical- and reactive oxygen species-sensitive TRPA1 channel mediates tooth movement-induced pain

○Mori A^{1,2}, Miyamura Y^{1,3}, Hitomi S¹, Shikayama T^{1,4}, Ujihara I¹, Sago-Ito M²,
Gunjigake K², Kawamoto T², Ono K¹

¹Div Physiol, Kyushu Dent Univ, ²Div Orofac Funct Orthodont, Kyushu Dent Univ, ³Div Dent Radiol, Kyushu Dent Univ, ⁴Div Periodontal, Kyushu Dent Univ

Orthodontic patients experience pain during the process of tooth movement. Continuous orthodontic force on the periodontal ligament (PDL) cells has been reported to produce reactive oxygen species (ROS). The aim of this study was to clarify that tooth movement-induced pain is mediated by mechanical and ROS sensitive TRPA1 channel. Rats were attached closed-coil spring to the right maxillary first molar and ipsilateral upper incisor. After administration with a TRPA1 antagonist or ROS scavengers, the pain-related behaviors were measured. Immunohistochemistry using an antibody for 8-OHdG was performed to investigate oxidative stress in the PDL. Double-immunofluorescence with anti-PGP9.5 antibody and anti-TRPA1 antibody was performed. We investigated the effect of H₂O₂ on Ca²⁺ response to osmotic mechanical stimulation in rat trigeminal ganglion neurons. Experimental tooth movement significantly enhanced pain-related behaviors, which were suppressed by the TRPA1 antagonist and the ROS scavengers. The PDL in the experimental group demonstrated strong immunoreactivity for 8-OHdG compared with that in sham. TRPA1-immunoreactivities were overlapped with PGP9.5-immunoreactivities nerve terminals in the PDL. Mechanically evoked Ca²⁺ responses were enhanced by H₂O₂ and inhibited by the TRPA1 antagonist. These findings suggest that ROS production in the PDL sensitizes TRPA1 on nociceptive fibers, resulting in nociceptive behaviors during tooth movement.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-11 口腔粘膜上皮細胞の骨芽細胞様細胞への影響 – 共培養による検討 –

○堀川 正¹, 中條 貴俊¹, 國分 克寿^{1,2}, 国分 栄仁², 松坂 賢一¹

¹東歯大 臨床病理, ²東歯大 微生物

【目的】 口腔は粘膜上皮と骨組織が近接しており、歯周疾患における内縁上皮細胞の侵入や歯科インプラント治療における上皮の侵入がしばしば治療上あるいは予後に関して問題となる。本研究は骨芽細胞に口腔粘膜上皮細胞が近接して存在する場合を想定して、骨芽細胞の動態解明を目的に行った。**【方法】** マウス歯肉由来の口腔粘膜上皮細胞と骨芽細胞様細胞としてMC3T3-E1細胞を用いた。骨芽細胞様細胞を6wellのデッシュ底面に播種し、0.4μmの微小孔を有する共培養用インサートに播種して共培養し、実験群とした。共培養を行わない骨芽細胞様細胞をコントロール群とした。実験群、コントロール群とも骨芽細胞様細胞に対して培養後1, 3, 7, 14日目の細胞数を計測し細胞増殖能を、1, 3, 7日後にcollagen type I, RUNX2, Bone gla protein (BGP)のmRNAの発現をreal time RT-PCR法により定量し、1, 3, 7, 14日目にALP活性を計測した。**【結果】** 細胞増殖能に関して、両群とも継時的に細胞数が増加していたが、実験群はコントロール群よりも14日後に有意差をもって増殖が抑制されていた。collagen type I mRNA発現は実験群とコントロール群のどちらも継時的に減少傾向を示しており、実験群での減少率が高く、実験群の7日目では有意差がみられた。RUNX2 mRNA発現はコントロール群で増加傾向がみられ、実験群の7日目では有意な差をもって小さい値を示した。BGP mRNAは両群とも継時的に増加傾向を示したが、コントロール群での増加率が高く、7日目で実験群との差に有意差がみられた。ALP活性はコントロール群で継時的に増加し、7日目と14日目で有意差をもって実験群が低い値を示した。**【考察】** 本研究から口腔粘膜上皮細胞は骨芽細胞様細胞の分化と機能発現を抑制することが明らかになった。歯周組織における内縁上皮の侵入や歯科インプラント周囲粘膜上皮の侵入が歯槽骨あるいは歯科インプラント周囲骨の骨形成を抑制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。

Oral epithelial cells inhibit the proliferation, mRNA expressions of collagen type I, RUNX2 and BGP, and ALP activity of osteoblast-like cells in co-culture

○Horikawa T¹, Chujo T¹, Kokubun K^{1,2}, Kokubu E², Matsuzaka K¹

¹Toyko Dent Coll, Dept Clin Pathophysiol, ²Tokyo Dent Coll, Microbiol

The purpose of this study was to investigate the effects of oral epithelial cells (OE) on osteoblasts' behavior for proliferation and osteogenic differentiation. Osteoblast-like cells (osteoblasts) were co-cultured in 6-well-dishes with (experimental group) or without (control) OE growing on cell-culture inserts. After 1, 3, 7 and 14 d, osteoblast-like cells were evaluated regarding cell proliferation, mRNA expression of collagen type I, RUNX2 and BGP, and ALP activity. The numbers of osteoblast-like cells in both groups increased, but the proliferation of osteoblasts in experimental group plateaued after 7 d. The mRNA expression of type I collagen in osteoblasts in both groups tended to decrease, but the decrease in experimental group was more dramatic. The mRNA expression of RUNX2 and BGP in osteoblasts in both groups tended to increase, but those increases in control group were more dramatic. The ALP activity of osteoblasts in control group increased until 7 d and then decreased at 14 d, but osteoblasts in experimental group underwent little change. The ALP activity of osteoblasts cultured in control group was significantly higher at 7 and 14 d than in experimental group. In conclusion, these results indicate that OE inhibit the osteogenic differentiation and function of osteoblasts.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-12 抹茶による *Porphyromonas gingivalis* に対する阻害活性のメカニズム

○高塚 絢巳^{1,2}, 池田 剛³, 平山 悟², 泉福 英信², 成澤 直規¹, 中尾 龍馬²

¹日大院 生資科, ²感染研 細菌一, ³崇城大 薬

【目的】 抹茶は、煎茶や紅茶と同じくチャノキ(学名 *Camellia sinensis*) と呼ばれる植物を原料に加工・製造される。特に抹茶は、その全葉を微粉末にしたものが飲食されるため、抽出物を飲む煎茶・紅茶などに比べて、チャノキ由来の有用成分を多く摂取できるという利点がある。チャノキ加工品の主たる生理活性物質としてポリフェノールが挙げられ、その歯周病原性細菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) に対する抗菌および抗バイオフィーム活性が既知となっている。一方で、抹茶による抗微生物作用機序の詳細は不明である。本研究では、抹茶の Pg に対する阻害活性の詳細について生体膜生物学の観点から検討を行った。**【材料および方法】** 抹茶抽出物 (MGT-Ext) は、抹茶を水/アセトンの二成分系溶媒を用いて抽出、秤量後 DMSO にて溶解した。Pg に対する MGT-Ext の最小発育阻止濃度 (MIC) を液体培地微量希釈法により決定した。MGT-Ext で処理した細菌の膜の生物学的特性を評価するため、各種蛍光色素によるフローサイトメトリーや蛍光プレートリーダーを用いて、膜の透過性、流動性、膜電位を測定した。MGT-Ext による Pg 菌体の形態変化は、走査型電子顕微鏡と高速原子間力顕微鏡により観察した。**【結果と結論】** MGT-Ext の Pg に対する MIC は 0.5 mg/mL であった。MGT-Ext を Pg に添加すると、菌体表面にはナノ粒子様構造体が出現した。また、MGT-Ext の添加により Pg 菌体は互いに強く結合し凝集塊を形成した。MGT-Ext は Pg の膜流動性を減少させ、膜の脱分極も誘導した。一方で、MGT-Ext は Pg の膜透過性には影響を与えなかった。以上より、MGT が示した Pg の細胞膜に対する複合的な作用が、その抗菌活性等に関与することが推察された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Mechanistic insights into inhibitory activity of Matcha green tea on *Porphyromonas gingivalis*

○Takatsuka A^{1,2}, Ikeda T³, Hirayama S², Senpuku H², Narisawa N¹, Nakao R²

¹Grad Sch Bioresour Sci, Nihon Univ, ²Dept Bacteriol 1, Natl Inst Infect Dis, ³Pharm Sci, Sojo Univ

Purpose: Matcha green tea (MGT), a traditional Japanese beverage, is consumed as a fine powder from whole leaves of *Camellia sinensis* plant. One of the major phytochemicals is polyphenols, among which catechins are well known to show anti-bacterial and anti-biofilm activities against periodontopathic bacteria. However, the detailed mechanism by which MGT shows the inhibitory activities against bacteria remains unknown. We aimed to examine how MGT has an effect of periodontopathic bacteria from a membrane biological point of view. **Materials and Methods:** MGT extract (MGT-Ext) was prepared by using water-acetone binary mixture. Minimum inhibitory concentration (MIC) of MGT-Ext against *Porphyromonas gingivalis* (Pg) was determined by a broth microdilution method. Membrane potential and membrane fluidity of bacteria treated with MGT-Ext were evaluated by fluorescent dye-based assays. Morphological analysis was performed by scanning electron microscopy and high-speed atomic force microscopy. **Results and Conclusion:** MIC of MGT-Ext against Pg was 0.5 mg/mL. MGT-Ext was found to induce auto-aggregation of Pg with appearance of nano-particle structure on the cell surface. Treatment with MGT-Ext not only induced membrane depolarization, but also decreased membrane fluidity of Pg. Taken together, MGT-induced bacterial membrane disorder in function and structure is probably responsible for the inhibitory activity against Pg.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-13 マイコプラズマ由来リポタンパク質／リポペプチドにより誘導される生きたマクロファージからの IL-1 β 細胞外分泌機構

○佐伯 歩¹, 引頭 毅², 長谷部 晃¹, 鈴木 敏彦³, 柴田健一郎¹

¹北大 院歯 口腔分子微生物

²朝日大 歯 口腔微生物

³医科歯科大 院医歯 細菌感染

IL-1 β は細胞内センサーであるインフラマソームにより活性化され、多くの場合、caspase-1 依存的なネクローシス様の細胞死である pyroptosis により細胞外へ放出される。我々はこれまで、*Mycoplasma salivarium* ならびに *Mycoplasma pneumoniae* の NLRP3 インフラマソーム活性化物質の一つであるリポタンパク質／リポペプチドがマウスマクロファージに pyroptosis を誘導せず、IL-1 β の細胞外分泌を誘導することを明らかにした。本研究では、これらのリポタンパク質／リポペプチドがどのような機構で生きたマクロファージに IL-1 β 分泌を誘導するのかを明らかにすることを目的とした。近年、caspase-1 により活性化された gasdermin D の N 末端領域が細胞膜に小孔を形成し、pyroptosis が誘導されること、さらに、生細胞からも gasdermin D 小孔を介して IL-1 β が分泌されることが報告された。*M. salivarium* ならびに *M. pneumoniae* から調整したリポタンパク質ならびに *M. salivarium* 由来リポペプチド FSL-1 は C57BL/6 マウスの骨髄由来マクロファージに IL-1 β 分泌を誘導し、本活性は gasdermin D のノックアウトにより阻害されなかった。さらに本活性は、細胞膜透過性の阻害剤である punicalagin により有意に阻害された。以上のことから、リポタンパク質／リポペプチドにより誘導される生きたマクロファージからの IL-1 β 細胞外分泌は、gasdermin D 小孔によるものではなく、細胞膜透過性が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。

IL-1 β release by living macrophages in response to mycoplasmal lipoproteins and lipopeptides

○Saeki A¹, Into T², Hasebe A¹, Suzuki T³, Shibata K¹

¹Dept Oral Mol Microbiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

²Dept Oral Microbiol, Asahi Univ Sch Dent

³Dept Bacter Pathogenesis, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

IL-1 β plays etiological roles in infectious diseases and is released extracellularly through pyroptosis, caspase-1-mediated necrosis, in most cases. Recently, we showed that lipoproteins of *Mycoplasma salivarium* and *M. pneumoniae* (MsLP and MpLP) and the lipopeptide FSL-1 derived from one of MsLP activated the NLRP3 inflammasome to induce IL-1 β release by living, but not dead, macrophages. Therefore, this study was designed to examine how they induce IL-1 β release by living macrophages. Recently, it has been reported that the pore-forming protein gasdermine D is involved in the IL-1 β release by living macrophages and also in the pyroptosis-mediated IL-1 β release. Therefore, we investigated whether gasdermine D is involved in the IL-1 β releases by living macrophages in response to MsLP, MpLP or FSL-1. We found that the IL-1 β release-inducing activities of MsLP, MpLP and FSL-1 were not attenuated in bone marrow derived macrophages (BMMs) of gasdermine D deficient mice. Furthermore, we found that punicalagin, a membrane stabilizing agent, downregulated the IL-1 β release by BMMs from C57BL/6 mice in response to FSL-1. These results suggest that the IL-1 β release by living macrophages induced by mycoplasmal lipoprotein/lipopeptide is not dependent on gasdermine D but plasma membrane permeabilization.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-14 松果体ホルモンメラトニンによる自然免疫系を介した炎症制御機構の解明

○菊池真理子^{1,2}, 桑田 啓貴², 嘉手納未季³

¹昭大 院歯 地域連携歯科, ²昭大 口腔微生物, ³昭大 障がい者歯科

【目的】メラトニンは脳の松果体の他に様々な免疫器官でも合成され、サーカディアンリズムだけでなく免疫反応としても多目的な調節機能がある。その他にも、歯科恐怖症患者の治療に対し、抗不安、抗ストレス作用の目的で使用されているとの報告もある。また自然免疫においては、メラトニンは抗炎症作用を示すと考えられており、過去の研究よりウイルス感染に関与する遺伝子が抑制されることが分かった。メラトニンの抗ウイルス免疫の詳細なメカニズムは不明であり、それらを解明していくことで免疫調節機構の一旦を明らかにしていきたい。【方法】自然免疫細胞であるマクロファージをメラトニンで前処置した後、脳心筋炎ウイルス(EMCV)を感染させた時の感染効率とIFN- β の発現変化を調べた。また、EMCV感染によるStressGranule(SG)の発現をG3BPの蓄積により観察すると共にTransfectionによってPoly(I:C)を直接細胞内に作用させることでもG3BPの蓄積を観察した。さらに、細胞膜内に局在するPIP2の変化を観察するために蛍光色素であるPLC(PH)GFPを用いて観察した。【結果】EMCV感染によるIFN- β の発現はメラトニンにより抑制された。またSGの発現もメラトニンにより抑制された。一方でTransfectionによりPoly(I:C)を細胞内に作用させた場合ではメラトニン処理の有無に差はみられなかった。PIP2はメラトニン処理することにより、細胞膜の局在が減少していることが観察された。【考察】メラトニンはマクロファージへのウイルス侵入効率を減少させ、抗ウイルス免疫において抑制的に働くことから、宿主免疫機能にとって不利な働きを示す可能性が示唆された。今後はメラトニンによる抗ウイルス作用のより詳細なメカニズム及び*in vivo*における影響についてマウスモデルを用いて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。

The modulatory function of pineal gland hormone melatonin in encephalomyocarditis virus infection

○Kikuchi M^{1,2}, Kuwata H², Kadena M³

¹Dept Community Based Comprehensive Dent, Showa Univ, ²Dept Oral Microbiol, Showa Univ, ³Dept Clinic for Persons with Disorders, Showa Univ

Melatonin has versatile regulatory functions for the immune response as well as the circadian rhythms. And in dentistry, the use of melatonin has been considered as safe and beneficial to treat anxious patients. But it remains a controversial issue in the dental field. Hence, we investigated whether melatonin can affect the anti-viral immunity. First, we measured the efficiency of viral infection using EMCV in macrophage cells (RAW264.7) with melatonin. Next, we evaluated that the effect of the melatonin to IFN-beta expression in the macrophage. Furthermore, to induce an anti-viral immune response in macrophages with avoiding the entry by an endocytic mechanism, we delivered Poly(I:C) into a cell by lipofection, then we observed that accumulation of G3BP was not altered significantly. Finally, we studied the local specific distribution of PIP2 with PLC(PH)GFP expressing vector. Together, melatonin suppresses anti-viral immunity due to the decrease of virus entry to macrophage, which is consistent with previous data. Melatonin has the possibility as an anti-protective effect during the virus infection. Our findings raise melatonin suppressed anti-virus immunity. Therefore melatonin may cause less anti-viral protection in innate immunity, which is not desirable for the host defense system.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-15 Toll 様受容体 (TLR) 2 リガンドが誘導する炎症性サイトカイン産生における 4-[(methylthio) phenylthio] methanebisphosphonate (MPMBP) の抑制効果

○玉井利代子¹, 鈴木 恵子², 眞島いづみ¹, 清浦 有祐¹

¹奥羽大 歯 口腔病態解析制御, ²昭大 歯 歯科薬理

【目的】 [4- (メチルチオ) フェニルチオ] メタンビスホスホネート (MPMBP) は, 新規の非窒素含有ビスホスホネートである. 本研究では, マウスマクロファージ様細胞 J774.1 における Toll 様受容体 (TLR) 2 リガンドまたは TLR4 リガンドが誘導する炎症性サイトカインの産生に対する MPMBP の効果を検討した. **【方法】** J774.1 細胞を MPMBP の存在下または非存在下で 5 分間前処理した後, TLR2 リガンドである Pam₃CSK₄ または TLR4 リガンドであるリポド A の存在下または非存在下で 24 時間培養した. 培養上清中の IL-6, TNF- α , MCP-1, および MIP-1 α を ELISA で定量した. 細胞毒性は, 上清中の乳酸デヒドロゲナーゼ (LDH) によって検討した. また, 生細胞は MTS 法を用いて調べた. 統計処理は, One-way ANOVA と Bonferroni or Dunn 法を用いて行った. さらに, J774.1 細胞の NF- κ B 活性化および MAPK の活性化における MPMBP の効果を ELISA とウェスタンブロット法で検討した. **【結果と考察】** J774.1 細胞を MPMBP で処理すると, TLR2 リガンドが誘導した IL-6, TNF- α , MCP-1, および MIP-1 α の産生が抑制された. また, MPMBP は細胞傷害を起さなかった. 一方, J774.1 細胞の TLR4 リガンドによる炎症性サイトカイン産生を抑制しなかった. さらに, MPMBP は J774.1 細胞の Pam₃CSK₄ が誘導した NF- κ B p65 の活性化を抑制したが, p52 と RelB の活性化は抑制しなかった. さらに, MPMBP は同細胞の Pam₃CSK₄ による JNK の活性化を抑制したが, p38 MAPK および ERK の活性化は抑制しなかった. 上記の結果から, MPMBP は, TLR2 リガンドによる NF- κ B p65 活性化および JNK 活性化を抑制することによって, J774.1 細胞の炎症性サイトカイン産生を抑制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 inhibitory effects of MPMBP on Toll-like receptor (TLR) 2 ligand-induced proinflammatory cytokine production

○Tamai R¹, Suzuki K², Mashima I¹, Kiyoura Y¹

¹Dept Oral Med Sci, Ohu Univ Sch Dent, ²Dept Pharmacol, Showa Univ Sch Dent

Objectives: The present study examined the effects of MPMBP, a novel non-nitrogen-containing bisphosphonate, on the production of proinflammatory cytokines by the macrophage-like cell line, J774.1, incubated with a Toll-like receptor (TLR) 2 agonist and a TLR4 agonist. **Methods:** J774.1 cells were pretreated with or without MPMBP for 5 min, and then incubated with or without Pam₃CSK₄ or lipid A for 24 h. Levels of secreted IL-6, TNF- α , MCP-1, and MIP-1 α in culture supernatants were measured by ELISA. Cytotoxicity was determined by LDH activity in the supernatants. Cell viability was also assessed by measuring the reduction of MTS to formazan by living cells. Data were analyzed using one-way ANOVA and the Bonferroni or Dunn method. We also examined the effects of MPMBP on the activation of NF- κ B and MAPK by ELISA and Western blotting. **Results and discussion:** Treatment of J774.1 cells with MPMBP down-regulated TLR2 ligand-induced production of the proinflammatory cytokines. However, MPMBP did not induce cytotoxicity and down-regulate TLR4 ligand-induced proinflammatory cytokine production. In addition, MPMBP inhibited Pam₃CSK₄-induced activation of NF- κ B p65 and JNK. These results suggest that MPMBP inhibits proinflammatory cytokine production in J774.1 cells by suppressing activation of NF- κ B p65 and JNK in the TLR2 pathway.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-16 Lamin A 遺伝子変異体の progerin の発現が骨芽細胞分化に与える影響

○高橋 富久, 大橋 晶子, 二宮 禎

日大 歯 解剖 I

内核膜を裏打ちする核ラミナの構成タンパクの1つに lamin A が知られている。Lamin A は様々な核内因子と相互作用し、核の構造を維持する他に、遺伝子の複製や発現、細胞分化の決定に関して重要な役割を演じている。一方、lamin A の遺伝子変異体の1つである progerin の発現は骨粗鬆症や骨変形症を伴う遺伝性早老症の Hutchinson-Gilford progeria syndrome を発症することが知られている。しかし、骨芽細胞分化における progerin の阻害メカニズムについては、不明な点が多い。本研究は、ヒト progerin に相当する C 末端側の 50 アミノ酸を欠損させたマウス progerin をコードする lamin A dC50 cDNA を作成し、前骨芽細胞様株化細胞の MC3T3-E1 へ導入し、骨芽細胞分化と β -catenin シグナル系に及ぼす影響について検討した。Dexamethasone を含む分化誘導培地で lamin A dC50 発現細胞を 7, 14, 21 日間培養した結果、ベクターのみを導入した対照群と比較して alkaline phosphatase, type I collagen, bone sialoprotein, Runx2 の遺伝子発現が有意に減少した。Osteocalcin と osterix (Osx) の遺伝子発現は変化しなかった。分化誘導培地に BMP-2 を添加して lamin A dC50 導入細胞を培養した結果、Runx2 と Osx の発現減少と基質の石灰化抑制が認められた。さらに、lamin A dC50 の発現は MC3T3-E1 における β -catenin の核内移行を抑制し、細胞内での active β -catenin とリン酸化 GSK-3 β の発現レベルを減少させた。以上の結果から、lamin AdC50 は β -catenin の発現と GSK-3 β のリン酸化を抑制することで骨芽細胞の初期分化と最終分化を負に制御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。

Effect of lamin A mutant, progerin, on osteoblast differentiation of MC3T3-E1 cells

○Takahashi T, Ohashi A, Ninomiya T

Dept Anat Nihon Univ Sch Dent

Lamin A, which is a component of inner membrane on nucleoplasm, plays a role in nuclear formation and cell differentiation. The expression of mutated lamin A, termed progerin, causes a rare genetic aging disorder, Hutchinson-Gilford progeria syndrome, which shows abnormal bone formation with the decrease in a number of osteoblasts. However, exact molecular mechanism how progerin exerts depressive effects on osteogenesis has not been fully understood. Here, we created mouse lamin A dC50 cDNA encoding progerin that lacks 50 amino acid residues at C-terminus, transfected it in mouse preosteoblast-like MC3T3-E1 cells, and examined the changes in osteoblast phenotype. When lamin A dC50-expressed cells were cultured with differentiation medium, alkaline phosphatase activity and mRNA levels of type I collagen, bone sialoprotein (BSP) and Runx2, were significantly decreased. In the culture containing BMP-2, mRNA levels of BSP, osteocalcin, Runx2 and osterix were strongly decreased with loss of mineralization, while mineralized nodules appear at 21 days in control cells. Furthermore, lamin A dC50 expression depressed nuclear localization of β -catenin with the decrease of GSK-3 β phosphorylation level. These results suggest that lamin A dC50 depresses osteoblast differentiation in both early and late stages, and it negatively regulates β -catenin activity interacting with GSK-3 β in cytoplasm.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-17 マクロファージの細菌性炎症応答制御における Lipin2 の役割

○綿引 麻美^{1,2}, 清水 康平², 星川 聖良^{2,3}, 千葉 満生^{2,3}, 福本 敏^{2,3}, 江草 宏^{1,2}, 犬塚 博之²

¹東北大 院歯 分子・再生歯科補綴, ²東北大 院歯 先端再生医学研究セ, ³東北大 院歯 小児歯

組織内への細菌の侵入に伴って活性化されたマクロファージは、炎症性サイトカイン産生を介して歯周組織の炎症を惹起し歯槽骨吸収を促進することで歯周炎を進行させることが知られている。近年、脂質代謝調節因子である Lipin2 が炎症惹起の中核を担うインフラマソームの負の制御因子として機能することが報告され、炎症応答における Lipin2 の役割が注目されている。本研究では、マクロファージにおいて Lipin2 が関与する炎症応答シグナルの詳細な分子機序を同定するとともに、Lipin2 活性調節機構解明の観点から Lipin2 タンパク質分解の分子メカニズムを明らかにすることを目的として解析を行った。マウスマクロファージ由来 RAW264.7 細胞の Lipin2 ノックアウト (KO) 株を用いた DNA マイクロアレイ解析から、Lipin2 KO 細胞で、脂質代謝に関連する遺伝子群や脱顆粒関連・サイトカイン産生関連遺伝子群の発現の上昇が認められたほか、LPS 誘導性の顕著な NF- κ B 転写活性化が観察されたことから、Lipin2 が主要な炎症抑制因子として機能していることが示された。さらに、ユビキチン・プロテアソーム経路を抑制したマクロファージの解析において、Lipin2 タンパク質安定化とともに LPS 誘導性の炎症性サイトカイン発現低下が認められた。このことは、Lipin2 タンパク質分解経路の阻害が、過剰な炎症応答の抑制や効率的な炎症収束の誘導に有効である可能性を示唆している。以上の解析から、Lipin2 関連シグナルの異常が自己炎症性疾患の発症につながるものが考えられ、本研究により得られた知見がそれら疾患に対する新規治療法の開発に寄与す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。

The role of Lipin2 in the regulation of proinflammatory signaling in macrophages

○Watahiki A^{1,2}, Shimizu K², Hoshikawa S^{2,3}, Chiba M^{2,3}, Fukumoto S^{2,3}, Egusa H^{1,2}, Inuzuka H²

¹Div Mol Regen Prosthodont, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ²Cent for Adv Stem Cell and Regenerative Res, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ³Div Ped Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

In inflammation, macrophages produce inflammatory cytokines such as IL-1 β , IL-6, and TNF α , resulting in exacerbation of periodontitis by causing inflammation of periodontal tissue and promoting alveolar bone resorption. Thus it is vital to elucidate the molecular mechanisms responsible for macrophage activation and inflammatory cytokine expression. Here, we define the role of Lipin2, which is a critical regulator of lipid metabolism, in controlling the inflammatory response and focus on the regulatory mechanism of Lipin2 activity through Lipin2 proteolysis in macrophages. In DNA microarray analysis, we find that Lipin2 knockout (KO) RAW264.7 cells exhibit increased expressions of lipid metabolism-, degranulation-, and cytokine production-related genes. Furthermore, LPS-induced NF- κ B activation was markedly increased in Lipin2 KO cells, suggesting that Lipin2 plays significant roles in anti-inflammatory actions. Besides, genetic and pharmacological blockade of the ubiquitin-proteasome system led to Lipin2 protein stabilization and the decrease in expression of LPS-induced inflammatory cytokines, implying that inhibition of the Lipin2 protein degradation pathway in macrophages leads to the suppression of excessive inflammatory responses. This study suggests that aberrant Lipin2-related signaling lead to the onset of various auto-inflammatory disorders, and thus targeting this pathway contribute to the development of novel therapeutic strategies for these disorders.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-18 オステオカルシンの代謝改善効果における GLP-1 受容体シグナルの役割○溝上 顕子¹, 向井 悟^{1,2}, 竹内 弘³, 自見英治郎^{1,2}, 平田 雅人⁴¹九大 院歯 OBT 研究セ, ²九大 院歯 口腔細胞工学, ³九歯大 口腔応用薬理, ⁴福歯大 歯

骨基質タンパク質であるオステオカルシン (GluOC) は、インスリン分泌促進作用をはじめ、糖・脂質代謝を改善する作用を持つことが報告されている。一方、Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) は食事摂取によって小腸上皮 L 細胞から分泌される消化管ホルモンで、インスリン分泌促進作用をはじめ食欲制御や心筋、低血糖のリスクが極めて低く、GLP-1 作動薬やその分解酵素の阻害剤が近年の糖尿病治療に用いられている。我々は、GluOC によるインスリン分泌促進作用の一部は GLP-1 を介するものであることを明らかにし、マウスに対する GluOC の長期投与によって空腹時血糖の低下、耐糖能の改善、および脂肪細胞の縮小が認められることを報告した。今回我々は、GLP-1 受容体欠損マウス (GLP-1R KO) で同様の実験を行い、GluOC による代謝改善効果は主に GLP-1 受容体を介したものであるだけでなく、GluOC が GLP-1R KO の全身代謝に対してむしろ負の影響を及ぼすことを明らかにした。GLP-1R KO に GluOC を長期間投与すると、インスリン分泌、インスリン感受性に変化は見られなかったが、空腹時血糖の上昇、耐糖能の悪化、および脂肪細胞面積の増大が見られた。マウス肝由来培養細胞株の GLP-1 受容体シグナルを阻害して GluOC で刺激すると、糖新生酵素の発現調節を行う転写因子 FoxO1 とそのコアクチベーターである PGC1 α の発現が上昇した。その上昇は GLP-1 のアゴニストである Exendin4 によって抑えられた。つまり、GLP-1 受容体シグナルは肝臓で GluOC によって誘導される糖新生を抑制していることが明らかになった。以上のことから、GluOC による全身エネルギー代謝改善作用において GLP-1 受容体シグナルが必須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。**Glucagon-like peptide-1 receptor signaling is required in osteocalcin-mediated improvement of whole body metabolism**○Mizokami A¹, Mukai S^{1,2}, Takeuchi H³, Jimi E^{1,2}, Hirata M⁴¹OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²Lab Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³Div Appl Pharmacol, Kyushu Dent Univ, ⁴Fukuoka Dent Coll

Uncarboxylated osteocalcin (GluOC) is a bone-derived hormone that plays an important role in glucose and energy metabolism by stimulating insulin secretion and pancreatic β -cell proliferation through its putative receptor GPRC6A. We previously showed that the effect of GluOC on insulin secretion is mediated predominantly by glucagon-like peptide-1 (GLP-1) released from intestinal endocrine cells in response to GluOC stimulation. Moreover, oral administration of GluOC was found to reduce the fasting blood glucose level, to improve glucose tolerance, and to increase the fasting serum insulin concentration and β -cell area in the pancreas in wild-type mice. We have now examined the effects of oral GluOC administration for at least 4 weeks in GLP-1 receptor knockout mice. Such administration of GluOC in the mutant mice triggered glucose intolerance, enhanced gluconeogenesis, and promoted both lipid accumulation in the liver as well as adipocyte hypertrophy and inflammation in adipose tissue. Furthermore, inactivation of GLP-1 receptor signaling in association with GluOC administration induced activation of the transcription factor FoxO1 and expression of its transcriptional coactivator PGC1 α in the liver, likely accounting for the observed up-regulation of gluconeogenic gene expression. Our results thus indicate that the beneficial metabolic effects of GluOC are dependent on GLP-1 receptor signaling.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-19 インフルエンザ感染による GP96 シャペロンの活性化は肺炎球菌の肺胞上皮細胞への付着を亢進させる

○住友 倫子, 中田 匡宣, 山口 雅也, 川端 重忠

阪大 院菌 口腔細菌

インフルエンザによる主な死因の一つは、肺炎球菌や化膿レンサ球菌による細菌性肺炎の合併である。インフルエンザウイルス感染に続発する細菌性肺炎の発症には、ウイルス感染による細菌感染への宿主感受性の亢進が指摘されてきたが、重複感染の初期段階における病態形成機構は不明である。これまでに、小胞体局在シャペロンである GP96 が A 型インフルエンザウイルス (IAV) 感染に伴い肺胞上皮細胞表層に誘導され、二次的に感染する細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表在化する GP96 のシャペロン機能に着目し、細菌性肺炎の発症メカニズムとの関連を検討した。

ヒト肺胞上皮細胞株に IAV A/FM/1/47 株 (H1N1) を感染させ、感染により発現量が変化する分子群を質量分析により同定した。その結果、GP96 の表在化に伴い、インテグリン αV の宿主細胞表層での検出量が増加した。そこで、IAV 感染細胞に肺炎球菌 D39 株 (血清型 2 型) を感染させ、感染 2 時間後における菌体付着量を検討した。IAV 感染細胞への菌体付着量はウイルス非感染細胞と比較して有意に増加したが、GP96 阻害剤、抗 GP96 抗体、抗インテグリン αV 抗体、および RGD ペプチドの添加により非感染細胞への付着量と同等レベルまで減少した。また、ウイルス感染細胞におけるインテグリン αV の細胞表層での検出量は、GP96 阻害剤処理により低下した。

以上の結果から、二次的に感染する肺炎球菌は、IAV 感染により表在化した GP96 および GP96 のシャペロン機能依存的に表層での発現量が増加したインテグリン αV をレセプターとして宿主細胞に定着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。

Influenza infection-induced chaperoning activity of GP96 promotes pneumococcal adherence to alveolar epithelial cells

○Sumitomo T, Nakata M, Yamaguchi M, Kawabata S

Dept Oral Mol Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Influenza infection predisposes the host to secondary bacterial pneumonia, a major cause of mortality during influenza epidemics. Although it is generally accepted that a preceding influenza infection leads to increased susceptibility to secondary bacterial infection, details regarding the pathogenic mechanism during the early stage of superinfection remain elusive. We recently reported that epithelial cells in humans infected with the influenza A virus (IAV) exhibit GP96 on the cell surface, an endoplasmic reticulum chaperon for numerous cell surface and secreted proteins. Integrins are known to be client proteins of GP96 and have been implicated in bacterial colonization. The present findings showed that *Streptococcus pneumoniae* demonstrated a greater level of efficient adherence to IAV-infected alveolar epithelial cells as compared to non-infected cells, while that enhanced bacterial association was reduced by introduction of a pharmacological GP96 inhibitor or the anti-integrin αV antibody. Furthermore, RGD peptide, an inhibitor of integrin-ligand interactions, repressed pneumococcal adherence to IAV-infected cells. Notably, the IAV infection-mediated surface display of integrin αV was completely abolished by introduction of the GP96 inhibitor. Taken together, our findings provide evidence that IAV infection induces a GP96-dependent surface display of integrin αV , leading to increased bacterial burden in the lungs.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-20 *Fusobacterium nucleatum* 感染によるマスト細胞からの細胞外トラップ産生と炎症誘導

○多田 浩之¹, 西岡 貴志², 松下 健二³, 菅原 俊二¹

¹東北大 院歯 口腔分子制御, ²東北大 院歯 口診, ³長寿セ 口腔疾患

【緒言】細菌感染に際して、マスト細胞はDNAから成る網状構造物 mast cell extracellular traps (MCETs)を放出し感染防御を担う。マスト細胞は慢性歯周炎の歯肉組織に集積することから、歯周炎の病態形成に関わる可能性が示唆される。本研究は、歯周病関連細菌 *Fusobacterium nucleatum* 感染によるマスト細胞からのMCETs産生ならびにMCETsによる炎症誘導について検討した。【方法】ヒトマスト細胞株 HMC-1 ないしマウス骨髄細胞由来マスト細胞(BMMC)に *F. nucleatum* ATCC 25586 株を感染後、同細胞を細胞外DNA染色試薬 SYTOX Green で染色しMCETs産生量を測定した。MCETsのシトルリン化ヒストンH3発現ならびに各種サイトカイン発現は、ウェスタンブロットならびにメンブレンアレイとELISAで測定した。また、ビタミンD₃誘導体OCTで分化誘導したヒト単球様細胞株 THP-1 をMCETsで刺激後、同細胞のIL-1 β , IL-6ならびにIL-8産生をELISAで測定した。【結果】HMC-1 ないしBMMCを *F. nucleatum* で感染すると細胞外DNAが検出され、同構造物はシトルリン化ヒストンH3を発現することからMCETsであることが示唆された。同MCETsはmacrophage migration inhibitory factor (MIF)を著明に発現し、MCETsにおけるMIF発現誘導はLPS阻害剤taurolidineで抑制された。MCETsはMIF依存的にTHP-1細胞からIL-1 β , IL-6ならびにIL-8産生を誘導した。【考察】*F. nucleatum* 感染によりマスト細胞が産生するMCETsはMIFを発現し、MIFは単球から炎症性サイトカイン産生を誘導することにより、歯周炎の病態形成に関わ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。

Fusobacterium nucleatum induces the production of extracellular traps by human mast cells, resulting in induction of inflammatory responses

○Tada H¹, Nishioka T², Matsushita K³, Sugawara S¹

¹Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ²Div Oral Diag, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ³Dept Oral Dis Res, NCGG

Objective: Mast cells produce extracellular web-like DNA structures (MCETs), which contain bactericidal substances, such as histone, in response to bacterial infections. To address the possible roles of MCETs in the induction of inflammatory responses, we examined the effects of infection with *Fusobacterium nucleatum* on the induction of MCETs by mast cells. **Methods:** The human mast cell line HMC-1 was infected with *F. nucleatum*. The production of extracellular DNA by mast cells was analyzed using SYTOX Green. The expression levels of citrullinated histone H3 and 105 cytokines in the MCET fractions were measured by Western blotting or ELISA. The human monocytic cell line THP-1 was treated with OCT, a vitamin D₃ analog, to induce differentiation to monocyte-like cells. **Results:** *F. nucleatum* infection induced the production of MCETs by HMC-1 cells. The MCETs expressed citrullinated histone H3 and macrophage migration inhibitory factor (MIF). The expression of MIF was inhibited by treating the bacteria with taurolidine, an LPS antagonist. The MCETs induced the production of IL-1 β , IL-6, and IL-8 by THP-1 cells in an MIF-dependent manner. **Conclusion:** These findings suggest that MCET production by mast cells in response to *F. nucleatum* infection plays a role in the pathogenesis of chronic periodontitis.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-21 口腔 *Veillonella* 解糖系の証明

○真島いづみ¹, 中澤 太², 玉井利代子¹, 清浦 有祐¹

¹奥羽大 歯 口腔病態解析制御

²インドネシア大 歯 口腔生物

【目的】これまで、口腔 *Veillonella* は解糖系の関連酵素を保有しないため、「糖」を栄養源として利用することが出来ず、他の口腔細菌が産生する「乳酸」を主な栄養源として増殖すると報告されてきた。しかし、近年の我々の研究成果から、口腔 *Veillonella* 全7菌種において、解糖系関連酵素コードするオーソログ遺伝子の保存が確認され、口腔 *Veillonella* 属細菌が解糖系をエネルギー代謝の一部として利用できる可能性が示唆された。本研究では、これら口腔 *Veillonella* の解糖系関連酵素遺伝子が、実際に機能しているかを明らかにするため、スクロースを基質とした際の終末代謝産物の解析を行った。【材料と方法】1%スクロース添加 TYH 液体培地に、口腔 *Veillonella* 全7菌種標準株を5日間、37℃で嫌気培養し、各培養上清のpHを測定後、終末代謝産物のHPLC解析を行った。また、コントロールとしてTYH及び1%乳酸ナトリウム添加TYH液体培地を使用した。【結果】スクロースは、いずれの菌種においても、その増殖を抑制しなかった。一方、口腔 *Veillonella* 全7菌種中、*V. denticariosi* のみ、スクロース添加によって、その培養上清のpHが低下した。さらに同試料のHPLC解析の結果、*Veillonella* 属細菌の主要代謝産物である酢酸とプロピオン酸に加えて、乳酸、ギ酸、iso-酪酸、iso-吉草酸が新たに検出された。【考察】口腔 *Veillonella* 全7菌種のうち、*V. denticariosi* においてスクロースの解糖系が機能し、エネルギー代謝の一部としていることが、初めて明らかとなった。また、その代謝経路では、乳酸とギ酸が主にpH低下に関与していることが考えられ、同菌種のう蝕への関与が示唆される。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Detection of oral *Veillonella* glycolysis

○Mashima I¹, Nakazawa F², Tamai R¹, Kiyoura Y¹

¹Dept Oral Med Sci, Sch Dent, Ohu Univ, ²Dept Oral Biol Fac Dent Univ Indonesia

Purpose: It has been reported for a long time that oral *Veillonella* utilize only lactic acids produced by other oral bacteria instead of carbohydrates as one of major energy sources. However, recently, our study revealed that all 7 oral *Veillonella* reserved ortholog genes coding enzymes related glycolysis. Therefore, it was suggested that they had possibility to utilize carbohydrates. In this study, metabolic end products in case of sucrose substrate were analyzed to clarify the function of glycolysis in oral *Veillonella*. **Materials and Methods:** Type strains of all 7 oral *Veillonella* were cultured in TYH medium with 1% sucrose under anaerobic condition. After 5 days, metabolic end products in the supernatants were analyzed by HPLC after pH measurements. **Results:** Sucrose decreased pH value in the culture supernatant of *V. denticariosi*. In addition, lactic acid, formic acid, iso-butyric acid, and iso-valeric acid were detected by HPLC besides acetic acid and propionic acid as major end products. **Discussion:** It was clarified that glycolysis might be functioned in *V. denticariosi* in case of sucrose substrate. Furthermore, it was considered that lactic acid and formic acid might contribute to decrease pH value, suggesting that *V. denticariosi* might relate to cause of dental caries.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-22 ナイシン高度耐性 MRSA の分離と耐性メカニズムの解明

○松尾 (川田) 美樹¹, 渡邊 温子^{1,2}, 小松澤 均³

¹鹿大 院医歯 口腔微生物

²鹿大 院医歯 歯科矯正

³広大 院医 細菌

【目的】ナイシンは乳酸菌の産生するバクテリオシンで、食品添加物として使用されている。本研究では、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) において、ナイシン作用による高度耐性菌の出現の有無と高度耐性化のメカニズム解明を行うことが目的である。【方法】MRSA である MW2 株, COL 株, TY34 株を各々 10^5 cell にナイシンを sub-MIC 濃度 24 時間, 3 回作用させた後, 菌株を分離した。ナイシン感受性は最小発育阻止濃度測定法, 遺伝子発現は定量性 PCR 法, タンパク発現はウェスタンブロッディング法により検証した。【結果】ナイシン作用後分離した MRSA は全てナイシン耐性化していた (SAN と命名)。遺伝子発現解析の結果, 既存の低濃度ナイシン耐性機構である ABC トランスポーター *vraDE* 遺伝子の発現上昇株 (前回の本会にて発表) と発現誘導消失株 (SAN2) を認めた。発現誘導消失株について, DNA マイクロアレイによる遺伝子発現網羅解析を行った結果, *psmA* 排出に関与する遺伝子群 (*pmtR, A-D*) の過剰発現を認めた。シーケンス解析から, *pmt* 領域のレギュレーター *pmtR* に点変異を認めた。SAN2 株の *pmt* 遺伝子群の不活性化株ではナイシン耐性低下ならびに *pmt* 発現の消失を認めた。臨床分離株 50 株について *pmt* 発現を検証した結果, *pmt* 遺伝子群の高発現を認める株は認められなかった。【考察】本研究では, ナイシン作用により生じた *pmtR* 遺伝子の変異が, ABC トランスポーター *pmtA-D* 遺伝子群の高発現を惹起することで, ナイシン耐性化することが明らかになった。*pmt* 系の高発現を認める MRSA はいまだ広く波及していないことが予想されるが, 黄色ブドウ球菌に対するナイシン応用時には耐性菌出現に注意を要すると考えられる。(会員外協力者: 宮脇正一 2)

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Evaluation of high resistant mechanism against nisin A in nisin A high resistant MRSA

○Kawada-Matsuo M¹, Watanabe A^{1,2}, Komatsuzawa H³

¹Dept Oral Microbiol, Grad Sch Med and Dent, Kagoshima Univ

²Dept Orthodont Dentofac Orthoped, Grad Sch Med and Dent, Kagoshima Univ

³Dept Bacteriol, Grad Sch Biomed, Hiroshima Univ

Objects Nisin is a bacteriocin produced by lactic bacteria and used for food additives. The purpose of this study is to elucidate the mechanism of nisin A high resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) mutants isolated by nisin A exposure. **Methods** small portion of MRSA cells at a sub-MIC concentration for 24 hours, 3 times. Susceptibility of antibacterial agents was determined by minimum inhibitory concentration (MIC) method. Gene expression was confirmed by quantitative PCR method. **Results&Conclusions** All isolated strains showed high nisin A resistance. As a result of the gene expression analysis, the genes encoding *PmtR-D* which involved in *psmA* efflux were overexpressed. From the sequence analysis results, point mutation was found in *pmtR* encoding the regulator of the *pmt* region. The *pmt* inactivated SAN strains showed decreased resistance to nisin A. We found no strains with *Pmt* high expression among clinical 50 strains. In this study, it was revealed that mutation of *pmtR* gene generated by nisin exposure caused resistant to nisin A by inducing high expression of ABC transporter *pmtA-D*. Since we did not find clinical strains with high *pmt* expression, it is note that *S. aureus* may generate high resistant strain by use of nisin.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-23 9型分泌機構 (T9SS) のカーゴタンパク質 PorA は、二成分制御系 PorXY および ECF シグマ因子 SigP の上流で T9SS 発現の調節因子として作用する

○中山 浩次, 雪竹 英治, 庄子 幹郎, 佐藤 啓子, 内藤真理子
長大 院医歯薬 微生物

歯周病原細菌ポルフィロモナス・ジンジバリスは、ジンジパインと呼ばれる細胞外プロテアーゼなどの多くの病原因子を菌体表面上および菌体外に9型分泌機構 (T9SS) によって分泌する。T9SS 構成タンパク質の遺伝子発現は、二成分制御系 PorXY (レスポンスレギュレータ PorX およびセンサーヒスチジンキナーゼ PorY) および ECF シグマ因子 SigP の縦列シグナル伝達によって調節される。しかし、シグナル伝達経路の全体的かつ詳細な機構はまだ解明されていない。本研究で T9SS カーゴタンパク質の1つである PGN_0123 (PorA と命名) が T9SS 構成タンパク質の遺伝子発現の調節に関与していることがわかった。X線結晶構造解析により、PorA のN末端ドメインは、1型線毛の先端タンパク質であり、マンノース結合性のある大腸菌 FimH タンパク質に類似していることが明らかになった。porA 欠失変異株は血液寒天培地上で非黒色集落を形成するが、継代培養すると黒色化する集落が得られる。この表現型が見かけ上復帰した株のゲノムを解析した結果、PorY の細胞質ドメインにおけるいくつかの変異が、porA 欠失変異株の欠損表現型を回復させることがわかった。また、PorXY 二成分制御系によって活性化される SigP シグマ因子は、porA 変異体では著しく減少することがわかった。これらの結果から、ポルフィロモナス・ジンジバリスにおける T9SS の発現調節において、PorA が PorY-PorX-SigP シグナル伝達の上流に位置することが示唆された。会員外共同演者：反田祐介, 今田勝巳。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

A cargo protein, PorA, of the type IX secretion system (T9SS) acts as a T9SS regulator upstream of the two-component system PorXY and the ECF sigma factor SigP

○Nakayama K, Yukitake H, Shoji M, Sato K, Naito M

Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

A periodontal pathogen, *Porphyromonas gingivalis*, secretes many virulence factors such as extracellular proteases called gingipains on the cell surface and in milieu by the type IX secretion system (T9SS). Gene expression of the T9SS component proteins is regulated by the tandem signaling of the two-component system PorXY (the response regulator PorX and the sensor histidine kinase PorY) and the ECF sigma factor SigP; however, whole and detailed mechanism of the signaling cascade is still unknown. We found that one of the T9SS cargo proteins, PGN_0123, tentatively named PorA in this study, was involved in regulation of the gene expression of T9SS component proteins. X-ray crystallography revealed that the N-terminal domain of PorA was similar to *Escherichia coli* FimH protein, the mannose-binding tip protein of the type 1 pilus. From suppressor mutant analysis, several mutations in the cytoplasmic domain of PorY were found to confer phenotypic recovery on the porA deletion mutant. We also found that the SigP sigma factor, which was activated by the PorXY two-component system, markedly decreased in the porA mutant. These results suggest that PorA is located upstream of the PorY-PorX-SigP signaling in the regulation of T9SS in *P. gingivalis*. Outside co-authors: Yusuke Handa, Katsumi Imada.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-24 亜硝酸イオンが *Streptococcus mutans* に及ぼす影響

○村上 圭史, 藤猪 英樹

徳大 院医歯薬 口腔微生物

【目的】硝酸イオンは、土壌を含む自然界に広く分布しており、水や野菜を主とした食品に豊富に含まれている。摂取した硝酸イオンは、腸管から吸収された後、その一部は唾液中に分泌される。その後、口腔微生物により還元され、亜硝酸イオンになることが知られているが、その生理的意義は不明である。今回、亜硝酸イオンが *Streptococcus mutans* に与える影響について検討した。【方法】菌株は *S. mutans* UA159 株を用いた。TSB 培地を使用し、硝酸 Na、亜硝酸 Na の最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。また、亜硝酸 Na の殺菌効果における pH の影響を検討するため、pH7.3, 6.0, 5.0, 4.5, 4.0 に調整した TSB 培地に、亜硝酸 Na を 25mM とするよう添加し、37°C で 2 時間作用させた後、寒天培地に塗布し、48 時間培養後コロニー数を測定した。さらに、亜硝酸 Na の殺菌メカニズムを検討するため、亜硝酸 Na から産生される NO⁺ の効果を阻害することが知られているビタミン C を添加し、殺菌試験を行った。【結果と考察】MIC はそれぞれ、硝酸 Na:400mM, 亜硝酸 Na:25mM となり、亜硝酸 Na は弱いながらも抗菌活性を示した。亜硝酸 Na は、pH7.3, 6.0 で殺菌効果は認められないものの、pH5.0 での生存率は 8.1%, pH4.5 では 0.3%, pH4.0 では検出限界以下と、酸性下では強い殺菌効果を示した。5mM, 10mM のビタミン C の添加により、亜硝酸 Na の殺菌効果は阻害された。亜硝酸 Na の pKa は 3.2~3.4 であり、酸性下では NO⁺ 及び NO に分解される。本実験により、酸性条件下では亜硝酸 Na から NO⁺ が産生され、*S. mutans* に対する殺菌効果が確認された。このことから唾液中の硝酸・亜硝酸イオンの新たな生理的役割が見出された。(会員外共同研究者) 藤本 望, 土屋 浩一郎, 井上 貴久, 片岡 佳子

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effects of nitrite ions on *Streptococcus mutans*

○Murakami K, Fujii H

Dept Oral Microbiol Inst Biomed Sci, Tokushima Univ Grad Sch

Nitrate ions are widely distributed in natureworld including soil, and are abundantly contained in water and vegetables. The ingested nitrate ions are absorbed from the intestinal tract and then partially secreted into saliva. After that, it is reduced by oral microorganisms to become nitrite ions, but the significance is unknown. In this study, we examined the effect of nitrite ions on *Streptococcus mutans*. *S. mutans* UA159 and TSB medium were used. The minimum inhibitory concentration (MIC) of sodium nitrate and nitrite was measured. The MICs of sodium nitrate and sodium nitrite were 400 mM and 25 mM, respectively. Sodium nitrite exhibited a weak antibacterial activity. To investigate the effects of pH on the bactericidal effect of sodium nitrite, 25 mM of sodium nitrite was added to the medium adjusted to several pH conditions for 2 hours and CFU was measured. Sodium nitrite did not show bactericidal effect at neutral pH, but the survival rate was clearly lower at acidic conditions. These results could show that nitrate and nitrite ions in saliva play an important role in the prevention of dental caries.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-25 *Streptococcus mutans* の病原因子調節遺伝子が GTF 依存的 Membrane vesicles に与える影響

○中村 知世¹, 岩渕 佑介², 成澤 直規¹, 中尾 龍馬², 泉福 英信²

¹日大 院 生資科

²感染研 細菌一

【目的】 メンブレンベシクル (Membrane vesicles; MV) は細菌が生産する 50-200 nm のナノ膜小体であり, 核酸や酵素などを含むことから物質の運び屋とされている。 *Streptococcus mutans* も MV を生産することが知られている。本研究では GTF 生産調節遺伝子である *smu833* と GTF により生産されるグルカンに結合するタンパク質 (GBP-C) の生産調節遺伝子である *smu940* が, MV の生産性及び MV 依存バイオフィーム (BF) 形成に与える影響について検討を行った。

【方法】 供試菌株は *S. mutans* UA159 株とその *smu833*, *smu940*, *gtfB*, *C* 変異株を用いた。それぞれの菌株を 1 L の Brain Heart Infusion 液体培地で培養し, その上清を 50 kDa で限外濾過後, 超遠心分離 (100,000 x g) を行い, その沈殿を 200 μ L の PBS で懸濁し MV とした。この時超遠心後の上清も実験に用いた。それぞれの MV を用いて SDS-PAGE, 抗 GTF 抗体を用いた Western-blotting を行い, GTF の確認後, *gtfB*, *C* 変異株に MV を加えた BF 形成実験を行った。

【結果】 SDS-PAGE にて GTF 量の確認を行ったところ, 野生株に比べて *smu833* 変異株では GTF が著しく減少し, *smu940* 変異株では増加していた。それぞれの MV による *gtfB*, *C* 変異株の BF 形成量を比較したところ, *smu833* では BF 形成量の低下が, *smu940* では BF 形成量の増加がみられた。また LIVE/Alexa 染色により, *smu833* の BF は他の株と比較してグルカン形成量が低下していた。

【考察】 *S. mutans* の主要な 2 つの病原因子調節遺伝子は, MV における GTF 量に影響を与え, BF に対してそれぞれ異なる働きを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。

Effects of regulatory genes to virulence factors on GTF-dependent Membrane vesicles in *Streptococcus mutans*

○Nakamura T¹, Iwabuchi Y², Narisawa N¹, Nakao R², Senpuku H²

¹Grad Sch Bioresour Sci, Nihon Univ

²Dept Bacteriol 1, Nat Inst Infect Des

Membrane vesicles (MVs) are 50 to 200 nm nanomembrane vesicles derived from bacteria, and considered to be carriers of substances because they contain proteins, nucleic acids, enzymes, etc. *Streptococcus mutans* is also known to produce MVs. In this study, we examined the effects of *smu833*, which is a GTF regulatory gene, and *smu940*, which is a regulatory gene of a glucan binding protein (GBP-C) that binds to glucan produced by GTF, on MVs productivity and MVs-dependent biofilm (BF) formation.

When the amount of GTF on the MVs was confirmed by SDS-PAGE, it significantly decreased in the *smu833* mutant compared to the wild strain, and increased in the *smu940* mutant. When the BF amounts of *gtfB*, *C* mutants induced by MVs were compared with wild type, the decrease of BF amounts was observed in *smu833* mutant and the increase of BF amounts was observed in *smu940* mutant. LIVE / Alexa staining showed that the decrease of glucan was also observed.

Two regulatory genes to major virulence factors have been found to control GTF amount levels on MVs resulting in different biofilm formation levels.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-26 血清型 M18 型 *Streptococcus pyogenes* の *nra* 遺伝子に存在するナンセンス変異への点変異導入は温度依存性の線毛産生を誘導する

○李 怡萱¹, 中田 匡宣¹, 住友 倫子¹, 広瀬雄二郎¹, 竹村 萌¹, 山口 雅也¹, 岡橋 暢夫², 川端 重忠¹

¹阪大 院歯 口腔細菌

²阪大 院歯 口腔科学フロンティアセ

Restoration of intact *nra* transcriptional regulator into serotype M18 *Streptococcus pyogenes* induced thermosensitive pilus production

○Li Y¹, Nakata M¹, Sumitomo T¹, Hirose Y¹, Takemura M¹, Yamaguchi M¹, Okahashi N², Kawabata S¹

¹Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

²Cent Frontier Oral Sci, Osaka Univ Grad Sch Dent

Purpose

Streptococcus pyogenes is a human pathogen mainly considered responsible for purulent diseases of the upper respiratory tract and skin, such as pharyngitis and impetigo. This Gram-positive bacterium displays a pilus structure on the cell surface, a potential serotype-specific virulence factor. In the reported genome sequence of a serotype M18 strain, a point-nonsense mutation in *nra* encoding a transcriptional regulator against pilus biogenesis genes was noted. Here, we report effects of that mutation on pilus expression and virulence-associated phenotypes in M18 strain, and discuss its biological significance.

Materials & Methods

The *nra* DNA sequence of 15 M18 clinical isolates was determined to verify the presence of a point-nonsense mutation. Utilizing an M18 strain isolated from a patient with pharyngitis (WT strain) and a temperature-sensitive shuttle vector, a chromosomal point mutation was introduced to recover intact *nra*, while a revertant strain possessing the wild-type genotype was also constructed. WT and mutant strains were cultured at either 37°C or 25°C to the late-exponential phase, then cell wall fractions were prepared by mutanolysin extraction, which were then used to examine pilus production by immunoblot analysis. To test the effect of the point-mutation on global transcription, RNA-seq analysis was performed using total RNA extracted from point-mutated and revertant strains grown at 37°C and 25°C to the late-exponential phase. To examine effects of *nra* restoration on virulence, bacterial survival in human blood and adherence to keratinocytes were tested.

Results & Conclusions

All tested M18 strains possessed the same *nra* mutation. Introduction of a point mutation restored detectable pilus production when cultured at 25°C, but not at 37°C, indicating *nra*-dependent thermosensitive pilus production. RNA-seq analysis indicated that *nra* specifically promotes transcription of pilus biogenesis genes and positive regulation was notable at 25°C. The survival rate of the point-mutated strain in human blood was statistically greater than that of the WT and revertant strains. Moreover, introduction of intact *nra* rendered an M18 strain more adherent to human keratinocytes. These findings indicate the evolutionary history of M18 strains, in which loss of functional *Nra* and pilus production has partially compromised their ability to survive in human blood and adhere to human skin, though may also lead to increased fitness in bacterial niches in human anatomical sites and tissue tropism.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-27 *Streptococcus pyogenes* は低グルコース環境においてアルギニン代謝依存的に遺伝子発現を変動させる

○広瀬雄二郎, 山口 雅也, 花田 知己, 住友 倫子, 中田 匡宣, 川端 重忠

阪大 院菌 口腔細菌

【目的】 *Streptococcus pyogenes* は上気道や皮膚より分離され、咽頭炎や劇症型感染症等の様々な病態を惹き起こす。本菌はアルギニン代謝により、エネルギーを獲得しアンモニアを排出する。培養液中での本菌の増殖過程では、アルギニン代謝系は定常期以降で顕著に発現することが報告されている。しかし、アルギニン代謝系を定常期に亢進させる意義は不明である。本研究では、*S. pyogenes* のアルギニン代謝系が発現される環境と、アルギニン代謝系を発現する意義について検討を行った。【方法】血清型 M1 型の化膿レンサ球菌を親株として、アルギニンデイミナーゼをコードする *arcA* 遺伝子の欠失株を作製した。野生株および *arcA* 欠失株において、THY 培養液中での生菌数の推移、*arcA* 発現量、培養上清中のアンモニアおよびグルコース濃度を測定した。また、グルコースおよびアルギニン不含の DMEM 培地を用い、アルギニン添加による各菌株の遺伝子発現変化を、RNA-seq 解析を用い検討した。【結果】 THY 培養液中では、各菌株間で増殖速度に差は認められなかったが、定常期以降の死滅速度は *arcA* 欠失株において亢進した。また、野生株の定常期における *arcA* 発現量は、対数増殖期と比較し顕著に上昇していた。さらに、各菌株の培養上清中のグルコース濃度は、定常期に検出限界値付近に低下したが、アンモニア濃度は野生株でのみ定常期以降に上昇した。RNA-seq 解析では、アルギニン添加により有意に発現変動する遺伝子は、野生株では上方制御が 220 遺伝子、下方制御が 138 遺伝子検出されたが、*arcA* 欠失株では検出されなかった。上方制御された遺伝子には、病原遺伝子である NAD 分解酵素や溶血毒素をコードする遺伝子が、下方制御された遺伝子では細胞分裂に関わる遺伝子群が検出された。【結論】 低グルコース環境において、*S. pyogenes* はアルギニン代謝依存的に遺伝子発現を変化させ、菌の生存や病原性の発揮に利用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。

Streptococcus pyogenes alters gene expression by arginine metabolism under glucose-limited condition

○Hirose Y, Yamaguchi M, Hanada T, Sumitomo T, Nakata M, Kawabata S

Dept Oral Mol Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Streptococcus pyogenes, isolated from human pharynx and skin, is responsible for a wide variety of infectious diseases ranging from pharyngitis to streptococcal toxic shock syndrome. Arginine metabolism in *S. pyogenes* supplements energy with ammonium excretion. It has been reported that arginine metabolism is upregulated at stationary phase during growth of *S. pyogenes* in culture medium, while the significance of upregulation of arginine metabolism is unknown. In this study, we investigated the environment in which *S. pyogenes* uses arginine metabolism and the significance of upregulation of arginine metabolism. Using strain 5448 (serotype M1), we constructed a mutant strain by deleting the *arcA* gene, which encodes arginine deiminase. In THY broth cultures, the mutant strain showed lower viability in the decline phase as compared to the wild-type strain. Additionally, glucose starvation induced a remarkable increase in *arcA* expression by the wild-type strain, leading to ammonium ion production. RNA-seq analysis indicated that arginine metabolism-dependent gene expression changes were detected only in wild-type strain. The 220 genes, such as virulence genes encoding NADase and cytolysin, were upregulated. In addition, the 138 genes, containing cell-division-associated genes, were downregulated.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

02-28 緑茶カテキン EGCG は *Streptococcus mutans* の酸産生を抑制し菌体凝集を促進する

○Han Sili^{1,2}, 安彦 友希¹, 鷲尾 純平¹, Luo Yufang^{1,3}, Zhang Linglin², 高橋 信博¹

¹東北大 院歯 口腔生化

²四川大 華西口腔医学院

³福建医科大 口腔医学院

Green tea-derived epigallocatechin gallate inhibited the acid production of *Streptococcus mutans* and promoted the bacterial aggregation

○Han S^{1,2}, Abiko Y¹, Washio J¹, Luo Y^{1,3}, Zhang L², Takahashi N¹

¹Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

²Dept Cariol Endodont, Sichuan Univ West China Sch Stomatol

³Dept Cariol Endodont, Fujian Med Univ Sch Stomatol

[Purpose] The prevention of dental caries by the antimicrobial property of green tea catechins has been considered. Previous studies have proposed that epigallocatechin gallate (EGCG), the major green tea catechin, could not only inhibit the growth of *Streptococcus mutans*, but also suppress various cariogenic virulence factors such as glucosyltransferases and lactate dehydrogenase of *S. mutans*. However, the detailed antimicrobial mechanism of EGCG is still controversial. Thus, we intended to investigate the underlying mechanism through examining the bactericidal activity of EGCG on *S. mutans* and its effect on acid production and aggregation of *S. mutans*.

[Materials and Methods] *S. mutans* NCTC10449 was used in this study. To test the bactericidal activity of EGCG, bacterial colonies were counted after the exposure of bacteria to different concentrations of EGCG. The pH-stat system was used to evaluate bacterial acid production from glucose at pH 5.5 and pH 7.0 under anaerobic condition in the presence and absence of EGCG. The aggregation of planktonic bacteria caused by EGCG was evaluated by optical density at 660 nm.

[Results and Conclusion] 2 mg/ml EGCG showed no bactericidal activity on *S. mutans* after 5 hours co-incubation, while 1 mg/ml EGCG decreased acid production by *S. mutans* both at pH 7.0 and pH 5.5. 2 mg/ml EGCG caused bacterial cell aggregation and reduced the optical density of cell suspension by 80%, suggesting that EGCG can inhibit bacterial adhesion to the tooth surface and the subsequent biofilm formation through promoting bacterial aggregation. These results indicate that green tea-derived EGCG has a potential to prevent dental caries.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-29 ミドリフグの棘の観察

○菊池 布恵, 石川 昂, 北村 啓, 山本 仁
東歯大 組織・発生

ミドリフグは硬骨魚類に属する汽水性熱帯魚である。脊椎動物で最もサイズが小さいゲノムを持ち、ゲノム中に遺伝子の割合が高く、かつ固有の機能を持たない遺伝子が少ないという特徴から、ゼブラフィッシュやメダカと同様に遺伝学のモデル動物とされている。このようなバックグラウンドからミドリフグは将来種々の研究に用いられる可能性が高いと考えられる。演者らは第56回と第57回の本学会学術大会においてミドリフグの歯とその周囲組織の構造について発表した。硬骨魚類は鱗によって体表を覆われるものが多いが、フグは鱗が特殊化した棘をもつことを特徴としている。そこでミドリフグの棘と周囲の構造について光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡により観察するとともに、棘の成分について解析した。体長3~5 cmのミドリフグ10匹を材料とした。4%パラフォルムアルデヒド溶液による浸漬固定後、棘を含む体表を剥離した。一部は次亜塩素酸ナトリウム溶液に浸漬し、周囲の軟組織を溶解して棘を取りだし、実体顕微鏡、走査型電子顕微鏡観察と成分分析に供した。また試料の一部は樹脂に包埋後研磨し、通法に従って走査電子顕微鏡用試料とした。その他は脱灰後、通法に従ってパラフィン包埋し、厚さ5 μ mの矢状断切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン重染色とAzan染色を施した。ミドリフグの棘は底辺の表層側の一部が陥凹した三角錐状同様の形態をしていた。陥凹部と底辺部には結合組織から侵入する太いコラーゲン線維束が観察された。この太い線維束は陥凹部と、底辺部とでは反対方向から棘に侵入しており、両者が同時に牽引されることによって棘が起立することが推測された。また棘の成分は鱗の成分と類似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。

Observation on the spine of green spotted puffer fish

○Kikuchi N, Ishikawa N, Kitamura K, Yamamoto H
Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll

Green spotted pufferfish (GSPfish) is Teleostei. Since GPSfish has the smallest genomes among vertebrates, GPSfish is selected as a model animal in genetics like zebrafish and medaka. Much Teleostei is covered with scales. Although spine is thought as specialized structure of scale, there is only slight information about spine structure is announced. Especially, there is no information about spine of GPSfish. For this reason, authors attempted to observe the structure of the spine of GPSfish using light and electron microscope in this study. 10 GPSfish (body length: 3-4 cm) were fixed with 4% paraformaldehyde solution. After extraction of spines from skin, these spines were observed by stereoscopic microscope and scanning electron microscope, and analyzed the ingredient. Some specimens were embedded in paraffin as a conventional method after decalcification and dehydration. Sagittal sections (5 μ m thickness) were stained with H-E and Azan staining. The spine had a shape of the tetrahedron that a fundus became dented in all parts of body. Thick collagen bundles were inserted into the dented part and base part. These findings suggest that these thick fiber bundles may play an important role for spine rising up. Moreover, the ingredient of spine resembled that of scale.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-30 新規遺伝子抑制法を用いた口蓋形成の制御機構解明への新たな取り組み

○犬伏 俊博¹, 廣瀬 匠¹, 吉田 尚起¹, 黒坂 寛¹, 杉山 弘², 山城 隆¹

¹阪大 院歯 矯正, ²京大 院理 化学

【目的】口蓋裂の原因遺伝子は、Runx-related transcription factor 1 (Runx1) をはじめとして多数同定されているものの、病因の本質的な理解には至っていない。我々は最近、口蓋の形成を司る新規の Runx1-pStat3-Tgfb3 経路を見出した。口蓋の形成に関与する遺伝子発現の調節には複数の転写因子が協働的に働いている。我々の着目している Runx1 や Stat3 も他のファミリーメンバーとの間で機能の重複や他の転写因子群との相互作用が示唆されている。我々は Pyrroleimidazole (PI) ポリアミドによる転写因子配列の認識配列を標的にした新規遺伝子抑制法にて、Runx や Stat ファミリーによる口蓋形成の制御機構を解明し、口蓋裂を予防する新規治療法の開発を最終目標としたプロジェクトを立ち上げた。本発表では、Runx の認識配列を標的にした PI ポリアミド (Chb-M) が口蓋癒合部における遺伝子発現に与える影響について報告する。【試料および方法】転写因子 Runx ファミリーの認識配列である 5'-TGTGGT-3' を含む PI ポリアミドは共同研究者の杉山博士から提供を受けた。Ex vivo では、胎生 14 日目のマウス胎児より口蓋癒合面を摘出し、ChbM は 1 μ M にて投与し、培養 48 時間後に組織を回収して遺伝子発現量をリアルタイム PCR 法にて定量評価した。【結果および考察】マウス口蓋前方部の一次口蓋二次口蓋癒合面では口蓋後方部の癒合面に比べて Tgfb3 の遺伝子発現が低いことが明らかになった。ChbM 投与後では前方部、後方部いずれにおいても Tgfb3 ならびに MMP13 遺伝子の有意な発現低下が認められた。【結論】本研究結果より、PI ポリアミドを用いることで Runx の DNA 転写領域への結合を阻害できることが明らかになった。このことから、PI ポリアミドを用いた新規遺伝子抑制法は、Runx や Stat ファミリーなどの転写因子による遺伝子発現調節機構の解明に非常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。

A new approach to examine the palate development mechanism

○Inubushi T¹, Hirose T¹, Yoshida N¹, Kurosaka H¹, Sugiyama H², Yamashiro T¹

¹Dept Orthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent, ²Kyoto Univ, Grad Sch Sci, Div Chem

[Purpose] Recently, we reported that the novel Runx1-Stat3-Tgfb3 axis is essential in anterior palatogenesis. It is indicated that the transcriptional factors cooperatively regulate gene expressions during palate development. The functional redundancy among the Runx family members and interaction between other transcriptional factors are suggested. Thus, we started a new project to elucidate the mechanisms of palatogenesis and develop a novel preventive therapeutic approach for cleft palate using the PI polyamide gene-switch technology. In this presentation, we reported the effects of PI polyamide containing consensus Runx-binding sequence (ChbM) in the fusing palates. [Materials and Methods] ChbM, which contains Runx-binding sequence 5'-TGTGGT-3', was provided by Dr Sugiyama. Control group was treated with ChbS, which contains scramble sequence. The palatal shelf was dissected at E14.0 and the explants were cultured. The gene expressions were quantified by Real-time PCR. [Results and Discussion] The expression level of Tgfb3 was lower in the anterior part than posterior part. ChbM treatment significantly reduced the expressions of Tgfb3 and MMP13 in both parts. [Conclusion] It is considered that the PI polyamide gene-switch technology is useful tool to elucidate the regulatory mechanisms of gene expression.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-31 口腔扁平上皮癌細胞におけるアセチル CoA カルボキシラーゼの役割

○伊藤 元貴^{1,2}, 高木 律男², 照沼 美穂¹

¹新潟大 院医歯 口腔生化

²新潟大 院医歯 顎顔面口腔外科

癌細胞は正常細胞とは異なる代謝系によって生存に必要なエネルギーを産生することが知られている。脂肪酸代謝においても *de novo* 脂肪酸合成が盛んであるとされるが、口腔癌における脂肪酸の役割は十分にわかっていない。そこで本研究は、脂肪酸合成経路の酵素の1つであるアセチル CoA カルボキシラーゼ (ACC) の口腔扁平上皮癌細胞における役割を、様々な生化学的手法によって解析することにした。ACC は脂肪酸合成経路の律速酵素として知られている。そこで ACC の抑制剤として知られるメトホルミンを用いて、日本人男性患者から作製された歯肉扁平上皮癌細胞株 Ca9-22 細胞の増殖と遊走を検討した。細胞数の測定、経時的な顕微鏡画像解析および生細胞数の定量から、メトホルミンは Ca9-22 細胞の増殖と遊走を有意に抑制することが観察された。メトホルミンは ACC を不活性化する上流酵素 AMP キナーゼ (AMPK) の活性化剤であることが知られているため、AMPK 活性化剤である AICAR を用いたところ、メトホルミンと同様に癌細胞の増殖や遊走を阻害することがわかった。また、メトホルミンによる ACC のリン酸化と発現量を検討したところ、ACC の不活性化を示すリン酸化の上昇が観察されたことに加えて、ACC の発現量が有意に減少していた。この結果は、AMPK の活性化が ACC のリン酸化を促進すると共に、ACC の合成の阻害または分解の促進にも作用することを示している。そこで、ACC の阻害剤でも癌細胞の増殖や遊走を抑制する効果があるかを検討することにした。ACC の阻害剤である PF-05175157 で刺激をしたところ、Ca9-22 細胞の増殖と遊走が抑制され、細胞死が観察された。これらの結果により、ACC が口腔扁平上皮癌の増殖や生存のために必須の酵素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 acetyl-CoA carboxylase in oral squamous cell carcinoma cells

○Ito G^{1,2}, Takagi R², Terunuma M¹

¹Dept Oral Biochem, Niigata Univ Grad Sch Med Dent

²Dept Oral Maxillofac Surg, Niigata Univ Grad Sch Med Dent

Cancer cells are known to rewire their energy metabolism to support rapid proliferation. In oral cancer, high rate of *de novo* fatty acid synthesis is observed, however, the role of fatty acid in the progression of cancer metastasis is not well understood. Here we examined the role of acetyl-CoA carboxylase (ACC), a rate-limiting enzyme, in the proliferation and migration of oral cancer cells. The oral cancer cell line Ca9-22 cells were stimulated with metformin, an inhibitor of ACC. Metformin significantly inhibited both proliferation and migration of Ca9-22 cells. Since metformin is also known as an activator of AMP kinase (AMPK), an upstream enzyme of ACC, we used AMPK activator AICAR. AICAR showed similar effect found in metformin suggesting that AMPK-ACC pathway is important for cell growth. Since ACC inhibition is achieved by its phosphorylation, we examined the phosphorylation of ACC. We found that metformin not only increases the phosphorylation of ACC but also reduces the expression of ACC. Finally, we used PF-05175157, an inhibitor of ACC, and found that PF-05175157 significantly inhibits the proliferation of Ca9-22 cells and induces cell death. Together, these results suggest that ACC is an essential enzyme for the growth and survival of oral cancer cells.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-32 咬合不正による認知機能の低下作用

○前芝 宗尚^{1,2}, 鍛冶屋 浩^{1,3}, 堤 貴司², 後藤加寿子⁴, 大野 純¹

¹福歯大 再生医研究セ

²福歯大 咬合修復

³福歯大 細胞分子生物

⁴福岡医短大 歯科衛生

【目的】近年、歯周疾患と認知機能との相関性を示す研究が着目されており、重度の歯周炎は認知機能の低下をもたらすこと等が報告されている。しかしながら、咬合性外傷等による咬合不正と認知機能との関連性についてはいまだ明らかになっていない。そこで今回、咬合不正モデルマウスを作成し、咬合不正と認知機能との関連性を明らかとすることを目的とした。**【材料と方法】**2ヵ月齢(若年モデル)、12ヵ月齢(高齢モデル)C57/BL6 マウスの上顎右側臼歯部咬合面にワイヤーを接着し早期接触を付与することで咬合不正を与えた。その後、これらマウスを無処置群、咬合不正1週間後、咬合不正4週間後群にわけ、Y字迷路試験、新奇物質探索試験及び8方向性放射状迷路試験にて認知機能の評価を行った。試験後各々の群における、脳海馬を回収しWestern blotting と定量性 RT-PCR を用いて認知機能関連分子の発現について調べた。**【結果と考察】**若年マウスにおいて咬合不正1週間後に認知機能が高齢マウスと同レベルにまで一過性に低下した。同時に認知機能低下に関連する物質の発現上昇と引き続くその分解酵素発現上昇を伴った。一方、高齢マウスは元来認知機能が低下しており、咬合不正による有意な変化は認められなかった。以上より、正常咬合の維持は認知機能を保つ有効な一要素となり得る可能性が示唆された。

【利益相反】本研究に関連し、開示すべき COI 関係にある企業などはありません。

The suppressive effects of malocclusion on cognitive ability

○Maeshiba M^{1,2}, Kajiyama H^{1,3}, Tsutsumi T², Goto K⁴, Ohno J¹

¹Res Cent Regen Med, Fukuoka Dent Coll

²Dept Oral Grow Deve, Fukuoka Dent Coll

³Dept Physiol Sci Mol Biol, Fukuoka Dent Coll

⁴Dept Dent Hygi, Fukuoka Coll Health Sci

(Background) Recently, there are many studies focused on the correlation between periodontal disease and cognitive ability. It has been reported that severe periodontitis was caused to decrease in cognitive ability. However, little is known that the relationship between malocclusion and cognitive ability. (Materials and Methods) Each 2-month-old (young model) and 12-month-old (elderly model) mice were divided into three groups of control (without malocclusion), 1 week after malocclusion and 4 weeks after malocclusion. The cognitive ability were evaluated the mice behaviors using two maze tests and substance search test. The hippocampus in brain after the tests was collected and examined the expression of cognitive ability related molecules using Western blotting and quantitative RT-PCR. (Results and Discussion) The cognitive ability was transiently decreased to 1 week after malocclusion in young mice at the same level as elderly mice. The expression of suppressive molecules in cognitive ability simultaneously increased in the young mice and subsequent increase in their degradation enzyme expression. In contrast, the malocclusion had little effect on in elderly mice with naturally its reduction. These results suggest that maintenance of normal occlusion may be a critical factor to maintain cognitive function.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-33 眼窩下神経損傷後に発症する顔面部機械アロディニアに対する Insulin-like growth factor-1 の役割

○菅原 詩織¹, 篠田 雅路², 岩田 幸一²

¹医科歯科大 院医歯 歯科心身医学

²日大 歯 生理

末梢神経損傷後に損傷部位に浸潤するマクロファージから放出される Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) は、損傷神経再生に関与していることが知られているが、眼窩下神経損傷 (IONI) 後の顔面部神経障害性疼痛に対する役割は不明である。本研究では、IONI 後の顔面部機械アロディニアに対する IGF-1 の役割を検討した。Sprague-Dawley 雄性ラットの右側眼窩下神経を半結紮し IONI モデルを作製した。IONI 後 15 日目まで、von Frey filaments を用いた三叉神経第二枝支配領域皮膚 (口髭部) への機械刺激に対する逃避反射閾値 (MHWT) が有意に低下した。IONI 部への IGF-1 receptor である Transient receptor potential vanilloid (TRPV) 2 のアンタゴニスト持続投与により、MHWT の低下が抑制された。IONI 後 3 日目、IONI 部において IGF-1 陽性マクロファージ数が増加し、同部位における IGF-1 量も有意に増加した。また、口髭部への機械刺激に応答する三叉神経脊髄路核尾側垂核に存在する広作動域ニューロンの興奮性が増強したが IONI 部への TRPV2 アンタゴニスト (Tranilast) 持続投与により抑制された。IONI 側三叉神経節 (TG) において、TRPV2 陽性かつ TRPV4 陽性口髭部投射 TG ニューロン数が増加したが IONI 部への Tranilast 持続投与により抑制された。さらに、IONI 後に生じる口髭部の MHWT の低下は、口髭部への TRPV4 アンタゴニスト投与により有意に抑制された。以上より、IONI 後に IONI 部へ浸潤するマクロファージから放出される IGF-1 が口髭部投射 TG ニューロンに発現する TRPV2 に結合し、そのシグナルが TRPV4 発現を増加させ口髭部の機械アロディニアの発症させ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。

Role of insulin-like growth factor-1 in face mechanical allodynia following infraorbital nerve injury

○Sugawara S¹, Shinoda M², Iwata K²

¹Dept Phychomatic Dent, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

²Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

Association of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) released from macrophages following infraorbital nerve injury (IONI) and orofacial neuropathic pain is unknown. We examined the role of IGF-1 in facial allodynia after IONI. ION of Sprague-Dawley male rat was half-ligated to develop the IONI model. Until the day 15 after IONI, the head-withdrawal threshold to mechanical stimulation (MHWT) to the facial skin (V2) was significantly decreased. The continuous administration of TRPV2 antagonist (Tranilast) to the IONI area suppressed MHWT reduction. On day 3 following IONI, the number of IGF-1-immunoreactive macrophages increased in the IONI region, and the amount of IGF-1 protein significantly increased at the injured site. The excitability of wide dynamic range neurons in trigeminal subnucleus caudalis (Vc) was significantly increased, and Tranilast suppressed its enhancement. In the IONI trigeminal ganglia (TG), the number of TRPV2 and TRPV4-immunoreactive neurons was increased, and this increment was suppressed by Tranilast administration into the IONI area. Furthermore, the reduction of MHWT following IONI was significantly recovered by the administration of TRPV4 antagonist. These suggest that IGF-1 released from macrophages in IONI site binds to TRPV2 in TG neurons, and TRPV4 expression is enhanced, resulting in mechanical hyperalgesia in the face following IONI.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-34 ヒト歯性幹細胞は成体マウス脳スライスにおける神経新生促進作用及び酸化ストレスによる細胞死に対する防御作用

○肖 黎, 佐伯 周子, 井出 良治

日歯大 生命歯 薬理

【目的】成人の中枢神経系は再生能力が極めて低く、酸化ストレスによる障害を受けやすい。本研究では、ヒト歯性幹細胞であるヒト歯髄幹細胞 (DPSCs) と乳歯歯髄幹細胞 (SHED) が, in vitro において成体マウス脳組織の 1) 神経細胞新生と 2) 過酸化水素による細胞死に及ぼす作用を調べた。【方法】成人抜去歯と乳歯より DPSCs と SHED をそれぞれ分離培養した。さらに SHED からは、低濃度過酸化水素の処理によって酸化ストレス耐性細胞 (OST-SHED) を作製した。次に 3 週齢のマウスから脳組織を取り出してそのスライスを作製した後、三次元条件下で DPSCs と SHED および OST-SHED と共培養し、それら培養脳スライスにおける神経細胞の新生を免疫染色法等で同定した。【結果と考察】DPSCs と共培養したマウス脳スライス海馬 CA1 領域と辺縁部には神経細胞の新生が免疫染色法で観察され、細胞の生存率も有意に高いことが Presto blue 法で確認された。一方、高濃度の過酸化水素投与は脳スライスの細胞生存率を有意に低下させたが、SHED および OST-SHED との共培養によってその生存率は有意に向上し、また海馬において成熟神経細胞の細胞死は抑制され、神経細胞の新生は促進された。これらの効果は OST-SHED で特に優れていた。さらに共培養の DPSCs, SHED および OST-SHED においては、神経栄養因子である BDNF の発現と分泌が観察された。以上の結果より、DPSCs, SHED および OST-SHED は神経栄養因子の分泌によって内因性神経組織の新生を促進し、酸化ストレスによる神経細胞障害を防御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。

Human dental stem cells promote neurogenesis and protect neuronal cells from oxidative stress in adult mouse organotypic brain slices in vitro

○Xiao L, Saiki C, Ide R

Dept Pharm, Nippon Dent Univ Sch Life Dent

The adult mammalian central nerve system (CNS) has difficulties for regeneration. CNS is also very sensitive to oxidative stress. The aim of this study is to investigate whether human dental stem cells (including dental pulp stem cells [DPSCs] and stem cells harvested from human exfoliated deciduous teeth [SHED]) can promote neurogenesis and protect neuronal cells in adult mouse brain slices in vitro. SHED were also treated with hydrogen peroxide (H₂O₂) at low concentration to obtain oxidative stress-tolerant cells (OST-SHED). Presto blue assay, immunostaining and ELISA showed that DPSCs were able to increase cell viability of the brain slices and stimulate the cell neogenesis (especially neurons) in both the CA1 zone and the edges of the hippocampal when DPSCs and SHED were co-cultivated with adult mouse brain slices. Both normal SHED and OST-SHED could prevent H₂O₂-induced cell death, and increase the numbers of mature neuron and neuronal progenitors in the hippocampus. SHED could also produce neurotrophic factor BDNF and promote the production of IL-6. Moreover, the neuronal protection of OST-SHED was significantly superior to that of normal SHED. Our findings suggest that DPSCs, SHED, and especially OST-SHED, could prevent oxidative stress induced brain damage and promote neurogenesis.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-35 頸部と上肢の筋紡錘に生ずる固有感覚を伝達する外側楔状束核から視床への投射

○上村 夢, 佐藤 文彦, 古田 貴寛, 大原 春香, 堤 友美, 池之上悦子,
吉田 篤

阪大 院歯 口腔解剖 2

【背景と目的】筋紡錘に生ずる固有感覚（筋紡錘感覚）は、ヒト、サル、ネコなどでは、視床の腹側基底核群（後外側腹側核[VPL]とこれに接する後内側腹側核[VPM]よりなる）の吻背部に伝達すると言われている。ラットの体部の筋紡錘感覚も同様の結果が電気生理学的に示唆されている。しかし我々は、ラットの頭部の主要な筋紡錘感覚である閉口筋の筋紡錘感覚が、これまでの予想とは異なり、VPMの尾腹内側縁（VPMcvm）に伝達されることを既に解明している（Yoshida et al., 2017, Brain Struct Funct 222）。そこで本研究では、体部の筋紡錘感覚の視床投射を再検討した。【方法】ラットを用い、順行性神経トレーサーである biotinylated dextranamine (BDA) を頸部や上肢の深部感覚が入力する外側楔状束核（ECu）に微量注入した。視床内に認められた BDA 標識軸索終末の分布を調べた。【結果】ECu の尾側 4/5 内への BDA の注入で視床投射が見られたが、吻側 1/5 への注入では認められなかった。標識終末は、注入の反対側の VPL の腹内側縁（VPLvm）に認められた。VPL の他の部位、VPMcvm、視床腹側基底核群の小細胞部、後核、髄板内核群を含む視床の他部位には認められなかった。この VPLvm は、これまで予想されていた VPL の吻背部からは離れた部位であり、VPLvm と VPMcvm とを合わせた全体は、視床腹側基底核群の腹側底を占めていた。【考察】ラットと同様に、ヒト、サル、ネコでも全身の筋紡錘感覚が視床腹側基底核群の腹側底に入力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。

Thalamic projections from the external cuneate nucleus conveying proprioception arising from the neck and forelimb

○Uemura Y, Sato F, Furuta T, Ohara H, Tsutsumi Y, Ikenoue E, Yoshida A

Dept Oral Anat Neurobiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Proprioceptive inputs arising from the body and head are recognized to ascend to the rostradorsal shells of the ventral posterolateral (VPL) and ventral posteromedial (VPM) thalamic nuclei, respectively, and, then, mainly to the somatosensory cortex involved in sensory discrimination. However, we have recently demonstrated that the rat proprioception from jaw-closing muscle spindles is conveyed to the caudo-ventromedial edge (VPMcvm) of VPM far from the rostradorsal shell of VPM, and, then, to the insular cortex involved in the emotion, but not to the somatosensory cortex. These findings strongly suggest that it is needed to re-examine the thalamic projections of proprioception from the body in rats. We injected an anterograde tracer (BDA) in the external cuneate nucleus which receives proprioception from the neck and forelimb in rats, and examined the distribution of BDA-labeled axon terminals in the thalamus. BDA-labeled axon terminals were found in the ventromedial parts of VPL which was far from the rostradorsal shell of VPL, but was rostradorsally adjacent to the VPMcvm. Therefore, it is highly likely that the proprioceptive inputs from the body can also be transported to the insular cortex through the ventromedial parts of VPL not only in rats but also in humans.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-36 慢性間歇的低酸素負荷によるラット口腔顔面領域における体性感覚の変調

○岸本 沙樹^{1,2}, 片桐 綾乃², 大山口藍子¹, 丹羽 均¹, 加藤 隆史²

¹阪大 院歯 麻酔

²阪大 院歯 口腔生理

【緒言】睡眠時の間歇的低酸素状態が、体性感覚を変調することは報告されているが、詳細な神経学的メカニズムは不明である。本研究では、明期の慢性間歇的低酸素負荷 (chronic intermittent hypoxia: CIH) がラットの口腔顔面領域の感覚閾値や神経応答を変調させるかを検討した。【方法】SD 雄性ラットに、8日間または16日間のCIH (酸素濃度21%-5%, 3分周期, 明期14:00-20:00) を施した。16日間のCIH (16d-CIH) 群と、8日間のCIH後に8日の負荷無し期間を設けた(8d-CIH) 群を用いた。口腔内の感覚は、2瓶法によるカプサイシン含有水に対する嫌悪反応を観察した。角膜の感覚は、機械刺激または高張食塩水刺激を与え、瞬目回数を測定した。口髭部皮膚には機械刺激を与え、逃避閾値を測定した。さらに、三叉神経脊髄路核～上部頸髄でのcFos陽性細胞の発現様式を解析した。【結果】両群ともに、間歇的低酸素負荷7日目より、カプサイシン含有水に対する嫌悪反応が認められ、間歇的低酸素負荷4日目より、角膜刺激に対する瞬目回数は刺激強度依存性に増加した。これらの反応は、間歇的低酸素負荷期間中は継続した。8d-CIH群では、負荷終了後から早期に上記の反応が低下し、負荷前の状態に回復した。口髭部皮膚への機械刺激に対する閾値は、両群ともに間歇的低酸素負荷による変化を認めなかった。また、間歇的低酸素負荷により、三叉神経脊髄路核中間亜核・尾側亜核移行部において、cFos陽性細胞数が有意に増加した。【考察】慢性的な明期の間歇的低酸素負荷は、三叉神経脊髄路核中間亜核・尾側亜核移行部のcFos発現変化を伴う、感覚閾値の低下を惹起した。また、これらの変化は可逆的である可能性も示唆された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

Changes in orofacial somatosensory sensitivity induced by chronic intermittent hypoxia in rats

○Kishimoto S^{1,2}, Katagiri A², Oyamaguchi A¹, Niwa H¹, Kato T²

¹Dept Dent Anesth, Osaka Univ Grad Sch Dent

²Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

[Purpose] The present study was designed to investigate the effects of chronic intermittent hypoxia (CIH) on orofacial somatosensory sensitivity. [Methods] Two groups of male Sprague-Dawley rats were exposed to chronic intermittent hypoxia (CIH) (O2:21% to 5%, 3 min cycles, 14:00-20:00 light phase) : one for 16 days (16d-CIH) and another for 8 days following by 8 days normoxia (8d-CIH). Intraoral sensitivity to capsaicin, ocular sensitivity to mechanical and hypertonic saline stimuli, and whisker pad sensitivity to mechanical stimuli were assessed. The expression of cFos was analyzed from trigeminal spinal subnucleus interpolaris to upper cervical spinal cord at 16 days. [Results] For both groups, increase in intraoral sensitivity and that of ocular sensitivity started at day 7 and day 4. These changes continued for 16 days in 16d-CIH rats. In 8d-CIH rats, intraoral and ocular sensitivity were recovered to baseline level after the expiration of CIH. No significant change was observed for the whisker pad sensitivity in two groups. The number of cFos positive cells in the trigeminal spinal subnucleus interpolaris/caudalis transition (Vi/Vc) was significantly increased in 16d-CIH rats. [Conclusions] CIH induced reversible increased of intraoral and ocular sensitivity in relation to the cFos expression in Vi/Vc.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-37 機械刺激を負荷した歯根膜線維芽細胞から産生した Wnt5a による軸索伸長作用メカニズム

○高橋かおり, 吉田 卓史, 若森 実

東北大 院歯 口腔生物 歯科薬理

歯根膜は歯と歯槽骨の間に位置し, 内在する Ruffini 小体が咬合圧を感知し繊細に咬合力を調節している. ラットの歯根膜において機械刺激を負荷しなければ Ruffini 小体が消失し再び咬合させるとルフィニ小体が再生する事が報告されたが, 機械刺激された歯根膜細胞による末梢神経軸索の分化・誘導機構は未だ明らかになっていない. 一方, 機械刺激に曝されている心筋や血管平滑筋組織の線維芽細胞では, インテグリンが機械刺激を受け取り下流の MAPK 経路を活性化していることが示唆されているが, 咬合圧が恒常的に働いている歯根膜線維芽細胞における細胞接着の重要性については不明な点が多い.

RT-PCR 法によりラット歯根膜 (rPDL) 初代歯根膜細胞株に NGF, BDNF, neurotrophin-4 (NT-4) および Wnt5a が発現している事を確認した. rPDL 細胞をシリコンチャンバーに播種し, 1 軸方向の周期的な機械刺激 (伸展周期 0.5 Hz, 伸展率 15%) を負荷し, qPCR 法により mRNA の発現量を定量的に解析したところ, rPDL 細胞における Wnt5a の発現量は刺激時間依存的に増加した.

細胞外の培地より Ca^{2+} を抜いて同様の実験を行うと Wnt5a の発現量が減少した. この Wnt5a の産生量増加は focal adhesion kinase (FAK) の阻害剤, PI3K 阻害剤および MEK1/2 の阻害剤により減少した. マウス三叉神経節細胞の培養に機械刺激を負荷した rPDL 細胞の上清培地を使用したところ神経突起の伸長が増強し, この作用は抗 Wnt5a 抗体によって阻害された.

これらの結果から機械刺激を負荷された PDL 細胞は, MEK1/2 および PI3K 経路を介して Wnt5a を産生し, この Wnt5a が三叉神経節細胞の神経突起を伸長させる事が示唆された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Wnt5a, secreted by mechanically stimulated rat periodontal ligament cells, promotes peripheral axonal outgrowth via MEK1/2 and PI3K pathways

○Takahashi K, Yoshida T, Wakamori M

Div Mol Pharmacol Cell Biophys, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Purpose: The Ruffini's corpuscles play a pivotal role in pressure sensing. Recent studies have shown that the absence of mechanical stimulation attenuates the number of Ruffini's corpuscles in the rat periodontal ligaments (rPDL). But there is no report to assess the regulatory mechanisms of the peripheral nerve structure by mechanically stimulated PDL cells.

Materials & Methods: We have established primary rPDL cell lines. The rPDL cells were seeded on silicon chamber and loaded with periodic mechanical stimulation (0.5 Hz, 15% elongation).

Results & Conclusion: The RT-PCR analysis confirmed the expression of NGF, BDNF, neurotrophin-4 and Wnt5a in the rPDL cells. The qPCR analysis revealed the expression level of Wnt5a in rPDL cells increased in a stimulation-period dependent manner. PF573228, a focal adhesion kinase (FAK) inhibitor, abolished this Wnt5a increase, and LY294002, a PI3K inhibitor, and U0126, a MEK1/2 inhibitor, suppressed the phosphorylation of Akt and ERK. The supernatant media of the mechanically stimulated rPDL cells enhanced the neurite elongation of mouse trigeminal ganglion neurons and anti-Wnt5a antibody interfered with this elongation. These results suggest that the mechanical stimulated PDL cells produce Wnt5a via MEK1/2 and PI3K pathways and the secreted Wnt5a from PDL cells elongates neurites.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-38 Gタンパク質共役型受容体 Gpr115 はエナメル芽細胞における炭酸脱水素酵素の発現を制御しエナメル質形成に関与する

○千葉 雄太¹, 齋藤 幹¹, 吉崎 恵悟², 福本 敏^{1,3}

¹東北大院歯 小児歯, ²九大 院歯 矯正, ³九大 院歯 小児口腔

Gタンパク質共役型受容体(GPCR)はGタンパク質を介したシグナル伝達により様々な細胞機能を制御するとともに, 組織特異的なGPCRは器官形成に重要な役割を有する. 一方, 歯の発生におけるGPCRの役割は未だ不明である. 我々は, 歯胚cDNAライブラリに発現するGPCRをマイクロアレイ法によりスクリーニングした結果, 今までその機能に関する報告のないGpr115が, 歯胚に強く発現することを見出した. そこで本研究ではGpr115の歯の発生における機能解析を目的とした. 歯の発生過程において, Gpr115は成熟期に相当する歯胚において強く発現しており, その発現はエナメル芽細胞に局在していた. Gpr115欠損マウスを作成したところ, Gpr115欠損マウス切歯のエナメル質は白濁し, 明らかなエナメル質形成不全症を呈していた. SEM-EDXを用いた元素分析の結果, エナメル質表層の炭素及び酸素含有量に異常が認められ, 加えてpH指示薬による染色の結果, 酸性領域が野生型マウスと比較して広範にわたっていた. そこでGpr115の標的分子を探索するため, Gpr115欠損マウス臼歯歯胚における遺伝子発現差を, RNAシーケンスにより解析した結果, イオンの恒常性に関わる分子群の発現変化が認められ, 中でも成熟期エナメル芽細胞に高発現である炭酸脱水素酵素 Car6 の発現が有意に減少していた. これらの結果より, Gpr115はエナメル芽細胞における炭酸脱水素酵素を介したpH調整に関与することが示唆されたため, マウス歯原性上皮細胞株 CLDE を用いて, 酸性環境下における遺伝子発現変化を検討した. その結果, 酸性環境下においてはCar6の発現が上昇し, その発現誘導はsiGpr115によるGpr115の発現抑制により阻害された. 以上の結果より, Gpr115はエナメル芽細胞において, Car6の発現制御によりエナメル質形成過程におけるpHを調整することで, エナメル質形成に重要な役割を持つことが明らかとなった. 【会員外共同研究者】山田吉彦(米国国立衛生研)

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

The G-protein coupled receptor Gpr115 regulates expression of the carbonic anhydrase in ameloblast during enamel formation

○Chiba Y¹, Saito K¹, Yoshizaki K², Fukumoto S^{1,3}

¹Div Ped Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ²Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

G-protein coupled receptors (GPCRs) act as transducers of external signal by activating associated G-proteins and regulate cellular functions. Tissue-specific GPCRs have important roles in organ development, however, the role of GPCRs in tooth development has never clearly understood. We screened GPCRs expressed in a tooth germ using cDNA microarray and found that Gpr115 was highly expressed in tooth. The aim of our study is identifying the role of Gpr115 during tooth development. Gpr115 is highly expressed in the maturation stage of ameloblasts. To identify the role of Gpr115 during tooth development, we created Gpr115-KO mice. Gpr115-KO mice showed chalky-white incisors and decreased mineral density of enamel. SEM-EDX analysis revealed that carbon and oxygen composition was dysregulated in Gpr115-KO enamel and the staining with pH indicator showed the expansion of acidic area. Further, RNA-sequence analysis showed that the expression of carbonic anhydrase 6 (Car6) was drastically decreased in Gpr115-KO molars. In addition, we examined the gene expression of mouse dental epithelial cell line CLDE in acidic condition. The expression of Car6 is upregulated in acidic condition and this induction was inhibited by knockdown of Gpr115. Thus, Gpr115 plays an important role in enamel formation via regulating the Car6 expression in ameloblast.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-39 p130Cas のエナメル質成熟過程における役割

○井上 茜¹, 中富 千尋², 中富 満城³, 進 正史⁴, 岡部 幸司⁴, 大島 勇人⁵,
松田 美穂¹, 自見英治郎¹

¹九大 院歯 口腔細胞工学, ²九歯大 分子情報生化, ³九歯大 解剖, ⁴福歯大 細胞生理, ⁵新潟大 院医歯 硬組織形態

【目的】 p130Cas は Src ファミリーチロシンキナーゼの基質であり, 成長因子やインテグリンシグナルによって細胞内で様々なタンパク質と複合体を形成するアダプタータンパク質である. p130Cas は歯, 唾液腺, 腎臓など上皮間葉相互作用によって形成される器官に発現しており, これらの器官形成や機能発現に重要であることが示唆される. 特に歯の発生過程において, エナメル質の広範囲にその発現が認められたことから, 歯の発生および成熟過程における p130Cas の生理的機能を明らかにするために, 上皮特異的に p130Cas を欠損させたマウス (p130Cas cKO) を作製し, 歯の解析を行った. **【方法と結果】** 野生型および p130Cas cKO マウスの切歯と臼歯を観察すると p130Cas cKO マウスの切歯は野生型と比較して白濁していた. この所見は歯を構成するイオンの濃度の違いを示唆するので, EPMA 解析で Ca, P, Mg の含有量を測定したところ, 野生型と比較して各元素の含有量が低下していた. また, 石灰化状態, エナメル質の強度を比較するため, Micro CT 撮影およびビッカース硬さ試験を行った. p130Cas cKO マウスの Micro CT 写真では, 野生型と比べてエナメル質の菲薄化, 歯髓腔の開大が見られ, エナメル密度も低下し, ビッカース硬さも小さかった. 一方, 臼歯は著明な形態変化, 白濁, およびエナメル質の菲薄化も認められなかった. **【結論】** 以上の解析結果より p130Cas は切歯エナメル質の成熟過程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.

The role of p130Cas in enamel maturation of mice

○Inoue A¹, Nakatomi C², Nakatomi M³, Shin M⁴, Okabe K⁴, Ohshima H⁵, Matsuda M¹,
Jimi E¹

¹Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ, ³Div Anat, Kyushu Dent Univ, ⁴Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll, ⁵Div Anat Cell Biol Hard Tissue Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

p130Cas is a substrate for Src family tyrosine kinases, and is an adapter protein that forms complexes with various proteins in cells by growth factors and integrin signals. p130Cas is expressed in organs formed by epithelial-mesenchymal interactions such as teeth, salivary glands, and kidneys, suggesting that it is important for their organogenesis and function. During tooth development, the expression of p130Cas was widely observed in enamel. Thus, to clarify the physiological function of p130Cas in the tooth development and maturation, we generated epithelial cell specific p130Cas-deficient mice (p130Cas cKO). The incisors, but not molars of p130Cas cKO mice were clouded compared with wild-type. EPMA analysis showed that decreased concentration of ions such as Ca, P, and Mg, in incisors of p130Cas cKO mice. In addition, microCT images and Vickers hardness test were performed to compare calcification status and enamel strength. The microCT images of p130Cas cKO mice showed thinning of enamel, enlargement of the pulp cavity, decrease in enamel density, and small Vickers hardness. In conclusion, p130Cas plays important roles during the maturation process of enamel.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-40 GONAD 法を用いたゲノム編集スモールタグノックインマウス作製による脳・顔面発生の解析：標的特異抗体の不必要の方法

○青戸 一司¹, 高林 秀次², 宮崎 岳大¹, 才津 浩智¹

¹浜松医大 医 医化学

²浜松医大 医用動物資源

マウス・ラットの顎顔面発生の解析において、標的タンパク質の細胞・組織内発現、生化学的修飾解析と、そのタンパク質の複合体機能解析（プロテオーム解析など）を明らかにするためには、組織・生化学的解析に用いることのできる特異抗体が必要不可欠である。我々は CRISPR-Cas9 ゲノム編集法とエレクトロポレーション法を組み合わせたノックイン (KI) マウス・ラット作製法 (Genome editing via Oviductal Nucleic Acids Delivery, GONAD 法, Takahashi, Sci. Rep. 2015, Takabayashi, Sci. Rep. 2018) によるマウスゲノムへのスモールタグの KI マウス作製方法を紹介する。この方法の利点は、標的遺伝子に Flag タグあるいは 2xHA タグ遺伝子などの 200bp までの長鎖一本鎖 DNA (ssDNA) として迅速にスモールフラグメントの挿入が可能である。我々はこれまで、GONAD 法などによりマウス 33 遺伝子 50 系統、ラット 3 遺伝子 5 系統を作製してきた。Flag や 2xHA 遺伝子をノックインしたマウスについては 3 遺伝子 8 系統以上作製している。これまで作製した Flag タグあるいは 2xHA タグ KI マウスは、標的タンパク質に対する特異抗体が不必要で、汎用性の高い安価な Flag 抗体あるいは HA 抗体による免疫沈降、ウェスタン・ブロット、免疫組織染色により標的タンパク質の発現解析、複合体の単離、プロテオーム解析など多様性のある解析ができる。Flag あるいは 2xHA タグ以外にも当研究室では蛍光タンパク質 mClover2 タグの KI マウス作製にも挑戦している。今回の作製法は、特異抗体のない標的分子に対して、また、多くの抗体を必要とする実験の代わりとしても有効であるため、研究手法として『特異抗体不必要のマウス個体解析方法』として提案したい。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Analysis of brain and face development by small tag knock-in mouse using genome editing GONAD method

○Aoto K¹, Takabayashi S², Miyazaki T¹, Saitsu H¹

¹Dept Biochem, Hamamatsu Univ Sch Med

²Lab Animal Facilities & Services, Hamamatsu Univ Sch Med

In analysis of mouse and rat craniofacial development, specific antibodies were necessary for expression analysis in cellular and tissues, biochemical analysis, and functional analysis of protein complex. Here, we introduce that small tag knock-in (KI) mouse and rat generation method combined with CRISPR-Cas9 genome editing and electroporation method (GONAD method). The advantage of GONAD method is that the maximum 200bp short DNA fragment of Flag or 2xHA tag as ssDNA can be easily inserted in target site., it is possible to insert small fragment within 200 base pair of Flag or 2xHA tag as single strand DNA (ssDNA) into the genome of target gene. We have generated mouse 33 genes, 50 strains, rat 3 genes, 5 strains using GONAD method and 1 mm gap electroporation method. We finished the knock-in mouse creation of 3 genes, 8 strains with Flag and 2xHA tag. Because this method is useful for analysis of target protein that we cannot get commercial antibodies, and for alternative experiment that we use many antibodies, we propose as experimental method, new mouse analysis method that we do not need specific antibody.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-41 米発酵エキスが象牙芽細胞様細胞 (KN-3) の分化におよぼす影響について

○岡本圭一郎^{1,2}, 柿原 嘉人^{2,3}, サントレイ³, 鷲尾 絢子⁴, 北村 知昭⁴, 山村 健介¹, 佐伯万騎男³

¹新潟大 院医歯 口腔生理, ²新潟大 日本酒学セ, ³新潟大 院医歯 歯科薬理, ⁴九歯大 口腔保存治療

清酒醸造の過程で生成される米発酵エキスは、近年、様々な生理活性機能を持つことが示されてきている。例えば、そのひとつとして骨代謝調節機能が挙げられる。この事実から米発酵エキスが同様に硬組織である象牙質の形成や代謝にも何らかの効果があることが推察される。多様な刺激が象牙質に達すると、歯髄に存在する象牙芽細胞は修復象牙質を形成する。つまり外部環境の変化に呼応した象牙芽細胞の分化促進が、歯髄の機能維持に重要になる。本研究の目的は、米発酵エキスが、象牙芽細胞様細胞株 (KN-3 細胞) の分化能に与える影響を検討することである。

KN-3 細胞を 10% ウシ胎仔血清含有 α -MEM で培養した。コンフルエント後、石灰化誘導培地 (ascorbic acid, 50 ug/ml, dexamethasone, 10 nM, beta-glycerophosphate, 10 mM) に PBS (コントロール) または米発酵エキスを添加し、0, 3, 9, 15, 18, 21 日後における ALP と Runx2 のタンパク質レベルについて検討した。米発酵エキス存在下では、コントロールと同様に 9 日目以降、ALP の増加が見られ、さらにコントロールに比べて発現レベルの亢進が見られた。一方、Runx2 はコントロール、米発酵エキスともに 3, 9 日で発現レベルの増加を認め、いずれの時点でも、米発酵エキスにおいて発現の亢進が観察された。また米発酵エキスが KN 細胞の増殖におよぼす影響を WST-1 を用いてアッセイした (石灰化誘導因子は無添加)。その結果、米発酵エキス存在下では、24 時間後までは増殖傾向を認めたものの、48, 72 時間後では濃度依存的に細胞増殖の低下が見られた。以上の結果から、米発酵エキスは象牙芽細胞の分化促進効果がある一方で、KN-3 細胞の増殖能については抑制する効果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。

Effects of rice fermented extracts on the differentiation of odontoblast-like cells (KN-3)

○Okamoto K^{1,2}, Kakihara Y^{2,3}, Thant L³, Washio A⁴, Kitamura C⁴, Yamamura K¹, Saeki M³

¹Div Oral Physiol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent, ²Niigata Univ Dept Sakeology, ³Div Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent, ⁴Div Endodont and Restor Dent, Dept Oral Functions, Kyushu Dent Univ

Rice fermented extracts, Sake Lees (Sake-Kasu, SL) are byproduct generated in the production of Sake. SL could regulate bone metabolisms, leading the idea that SL has roles on tooth especially, dentin metabolisms. Environmental stimuli induce reparative dentin formation and facilitation of the odontoblast differentiation could play critical roles to maintain the function of tooth pulp. We assessed the roles of SL on the differentiation of odontoblast-like cells (KN-3) by the protein expression such as ALP and Runx2. KN-3 cells were incubated in the medium containing ascorbic acid, dexamethasone, and beta-glycerophosphate for 21 days. Data revealed that both vehicle and SL increased the levels of ALP from Day 9-21 and that of Runx2 from Day 3-9 compared to that of Day 0. Further, the levels of these proteins in each period were greater in SL compared to PBS. We tested the cell proliferation for KN-3 in the presence of SL. Data showed that increases in cell proliferation were seen by 24 hours, but not 48 and 72 hours after SL treatments. These findings supported the idea that SL could have potential to facilitate the differentiation of odontoblastic cells, while the roles of SL on KN-3 proliferation could be open to discussion.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-42 萌出後マウス臼歯の歯髄における象牙質形成関連因子の発現解析

○神尾 強司¹, 守田 剛¹, 角田 佳折¹, 湯本 浩通², 馬場 麻人¹

¹徳大 院医歯薬 顎顔面形態

²徳大 院医歯薬 歯周歯内

【目的】象牙質形成に関与するシグナリングは、胎生期において様々な種類の細胞の増殖および分化に重要な役割を果たすとともに、その後の硬組織形成を制御することが知られている。しかし、萌出後のこれらの関与についてはほとんどわかっていない。そこで、本研究は萌出後マウス上顎第1臼歯の歯髄における象牙質形成関連遺伝子の発現パターンを明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】生後2, 4, 8, 12, 16および20週齢(w)のICRマウスを用いて、4%パラホルムアルデヒドで灌流固定した後、一晚(4℃)浸漬固定した。そして、8%EDTA(pH7.4, 4℃)にて1~3週間脱灰した。それぞれの週齢にて、標的となる転写因子のプライマーを用いてcDNAを作製した。次に、マウス上顎第1臼歯における象牙質形成関連因子であるDspp, Fgfr2c, Fgfr3cの発現量の経時的変化を調べるためにreal-time PCRを行った。また、マウス上顎第1臼歯の前頭断の連続パラフィン切片を作成し、HE染色および*in situ* hybridizationを行った。

【結果および結論】real-time PCRの結果、萌出後もDspp, Fgfr2c, Fgfr3cが発現していることが確認された。DsppおよびFgfr2cの発現は2wより週齢が進むにつれて減少していた。一方、Fgfr3cに関しては各週齢において大きな変化は認められなかった。*In situ* Hybridizationの結果、Dsppは2wおよび4wの象牙芽細胞において発現が認められたが、8w以降では検出できなかった。Fgfr2cおよびFgfr3cは、象牙芽細胞でとても弱く検出された。したがって、萌出後も象牙芽細胞調節へのFgfシグナルの関与が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Gene expression of dentin formation related factors in dental pulp of mouse molar, after tooth eruption

○Kano T¹, Morita T¹, Sumida K¹, Yumoto H², Baba O¹

¹Dept Maxillofac Anat Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

²Dept Periodontol Endodont, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

Purpose: In the present study, we figure out the expression patterns of dentin formation related factors in mouse maxillary first molar (M1) after tooth eruption.

Materials & Methods: Postnatal 2-20 week-old mice were dissected and M1s were fixed using 4% paraformaldehyde solution, followed by decalcification in 8% EDTA (pH 7.4). Total RNAs were collected from these samples and some specimens were made into paraffin sections. cDNA of targeted transcripts was generated and real-time PCR (qPCR) was performed to examine the temporal changes of expression levels for Dspp, Fgfr2c, and Fgfr3c. *In situ* hybridization (ISH) was performed using paraffin sections.

Results and Conclusion: The results of qPCR clearly showed the expressions of Dspp, Fgfr2c and Fgfr3c even after tooth eruption. The expression of Dspp and Fgfr2c were decreasing as the age progressed from 2 week-old. While, no significant change was observed in Fgfr3c at each age. The results of ISH showed that Dspp was expressed in odontoblasts at the age of 2 and 4 week, however, was not detected after 8 week. Therefore, it was suggested that Fgf signaling might regulate the activity of odontoblasts even after tooth eruption.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-43 シングルセル分散法で培養したヒト iPS 細胞から上皮細胞への分化誘導法の確立

○普天間 拓, 鳥海 拓, 本田 雅規

愛院大 歯 口腔解剖

【背景】 歯の発生や再生には胎生期初期の上皮細胞と神経堤細胞との上皮-間葉相互作用が必須であるが、成体からそのような細胞を取得することは困難である。そこで、我々は歯の再生を可能とする神経堤細胞および上皮細胞をヒト iPS 細胞から誘導することを計画し、ヒト iPS 細胞から神経堤細胞への誘導方法は確立した。近年、iPS 細胞をシングルセルに分散させることで容易に培養・増殖させる方法が考案された。本研究では、このシングルセル培養法にて分散・培養したヒト iPS 細胞を上皮細胞に分化誘導させることを試みたので報告する。【方法】 理化学研究所より購入したヒト iPS 細胞 (253G1 株) をマウス胎児線維芽細胞 (MEF) 上で培養後に Cellartis DEF CS 500 培地を用いフィーダーフリー培養条件下でシングルセルに分散させて培養した。その後、Cai らの上皮細胞への分化誘導法で用いられている DMEM/F12 に 1 μ M RA, 25 ng/ml BMP4 および 1 \times N2 を添加した培地を用いてヒト iPS 細胞を分化誘導を試みた。一定期間ヒト iPS 細胞を分化誘導後に RNA を回収しリアルタイム PCR を用いて上皮細胞のマーカー遺伝子および細胞接着分子の遺伝子発現について解析を行った。さらに、分化誘導後の細胞を固定し上皮細胞マーカーを用いて細胞免疫染色を行い観察した。【結果】 上皮細胞への分化誘導培地で培養後、シングルセル分散法で培養したヒト iPS 細胞は細胞形態は敷石状に変化した。リアルタイム PCR による遺伝子発現解析において、上皮細胞マーカーである Tumor Protein 63 (P63), Cytokeratin (CK) 18 および細胞接着分子の Cadherin の発現量が分化誘導前と比較して増加した。さらに細胞免疫染色において、分化誘導培地を用いて培養することで、抗 P63 および抗 CK (wide spectrum) に陽性な細胞が観察された。【結論】 シングルセル分散法で培養したヒト iPS 細胞は容易に増殖し、上皮細胞への分化誘導培地を用いることで上皮細胞に分化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。

Induction of epithelial cells from human induced pluripotent stem (iPS) cells using single cell culture method

○Futemma T, Toriumi T, Honda M

Dept Oral Anat, Aichi Gakuin Univ Sch Dent

Interaction between epithelial cells and neural crest cells in the early embryonic stages is essential for tooth development and regeneration. However, it is difficult to obtain these cells after birth. Therefore, we planned to induce neural crest cells and epithelial cells from human iPS cells for tooth regeneration. In recent years, a method has been established in which iPS cells are easily cultured by a single cell. In this study, we differentiated human iPS cells which were cultured in an induction medium for differentiation into epithelial cells. The morphology of human iPS cells cultured in an epithelial cell-induction medium showed a cobblestone-like shape. These induced cells also showed increased expression levels of the epithelial cell markers P63 and CK18, and the cell adhesion molecule marker Cadherin. They also showed positive for anti-P63 and anti-CK by immunostaining. It is therefore suggested that human iPS cells using a single cell culture method can be differentiated into epithelial cells.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-44 PRIP regulates talin1 dimerization by binding to its dimerization domain, and controls fibronectin/integrin-mediated cell adhesion

○浅野 智志¹, 兼松 隆^{1,2}

¹ 広大院医 細胞分子薬理

² 九大院歯 口腔常態制御

Talin1 は細胞外基質への細胞の接着に関わる接着斑を構成するタンパク質の一つであり, vinculin など複数の接着斑構成タンパク質と結合し, 接着構造のプラットフォームとして細胞接着において中心的な役割を担っている. Talin1 は細胞外基質に結合する integrin と細胞内のアクチン細胞骨格とを結びつけ, integrin による基質への接着力を調節している. さらに talin1 は talin1 同士が結合するための dimerization domain (DD) を有しており, talin1 の 2 量体化を含む talin1 の構造変化は接着力と密接に関係していると考えられている. 我々のグループはこの talin1 に結合する新たなタンパク質 Phospholipase C-related catalytically inactive protein (PRIP) を見出した. PRIP はこれまでイノシトールリン脂質 PI(4,5)P₂ の代謝調節を担うことによって PI(4,5)P₂ 依存的な細胞移動, 細胞分裂や細胞増殖を調節していることが明らかになった分子である. 乳癌細胞 MCF-7 に PRIP を発現させるとフィブロネクチンへの接着が促進された. 一方, PRIP ノックアウト細胞では接着力が低下していることがわかった. PRIP はその N 端側領域 (1-298 aa) を介して talin1 DD に結合した. PRIP (1-298 aa) を発現させた MCF-7 は顕著に接着斑の面積が拡大することがわかった. さらに, 生化学的手法によって PRIP (1-298 aa) が talin1 の 2 量体化を促進させることを明らかにした. これらの結果は, PRIP が talin1 DD に結合し, talin1 の 2 量体化を調節することによって talin1 依存的な細胞接着を制御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.

PRIP regulates talin1 dimerization by binding to its dimerization domain, and controls fibronectin/integrin-mediated cell adhesion

○Asano S¹, Kanematsu T^{1,2}

¹ Dept Cell Mol Pharmacol, Hiroshima Univ

² Dept Cell Biol Pharmacol, Kyushu Univ

Talin1 is one of focal adhesion-associated proteins. Talin1 forms the core of integrin adhesion complexes by linking integrins directly to actin and increases the affinity of integrin to fibronectin. It regulates the strength of integrin adhesion, increases focal adhesion size in response to force and serves as a platform for the building of the adhesion structure. Here we showed that phospholipase C-related catalytically inactive protein (PRIP) was new binding partner of talin1. PRIP overexpression in MCF-7 human breast cancer cells promotes cell adhesion on fibronectin. In contrast, PRIP knockout mouse embryonic fibroblast displayed decreased cell adhesion. PRIP bound to talin1 dimerization domain (talin1DD) via its region (1-298 aa) containing a PI(4,5)P₂ binding motif. Overexpression of PRIP1 (1-298) in MCF-7 cells significantly increased focal adhesion size. Dimerizing talin1 has two of integrin binding site in theory. Talin1 dimerization was significantly promoted by recombinant PRIP1 (1-298). Collectively, PRIP regulates talin1 dimerization by binding to talin1DD, and controls fibronectin/integrin-mediated cell adhesion.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-45 Ets ファミリー分子による癌細胞悪性転化機構

○齊藤 正夫

山梨大 院医 生化

現在、原発巣のがん細胞は均一細胞群ではなく、形質の異なる細胞が混在する不均一 (heterogeneity) 細胞群であることが明らかとなり、的確な診断や治療を困難にしている。これら heterogeneity を形成するメカニズムのひとつとして上皮間葉転換 (Epithelial Mesenchymal Transition: EMT) がある。原発巣の一部のがん細胞は EMT によって、がん幹細胞の発生に寄与するばかりでなく、高い抗がん剤耐性を示すようになる。さらに亢進した運動性により間質内を浸潤、効率よく循環内腫瘍細胞として生存し、最終的に遠隔転移の種となる。したがって、EMT によって悪性形質を獲得した一部のがん細胞を的確に診断し、制御できれば画期的な治療法として期待される。最近、形態形成過程の必須のプロセスでもある EMT が complete EMT と称されるのに対し、がん細胞では、partial EMT によって、1つの細胞内に上皮様形質と間葉系形質の両方を発現する E/M ハイブリッド形質を示すことが明らかにされつつある。これまでの EMT の研究実績の中で、EMT 誘導に非常に重要な分子である ETS に関し、頭頸部癌細胞を用いた研究により、非常にユニークな作用機序が明らかとなった。ETS1/ETS2 は EMT を誘導する転写因子である ZEB を強力に発現誘導することで EMT を促進し、同ファミリーである ESE1 などは抑制性に機能していることを見だし、さらに点突然変異により抑制性の機能が解除されることがわかった。さらにマウスを使った解析からも、これらの機能が再確認され、ETS は癌遺伝子としてのみならず、EMT 誘導因子としての機能も明らかとなった。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Ets family proteins regulate aggressiveness of head and neck cancer cells

○Saitoh M

Dept Biol Chem Univ Yamanashi

EHF, ETS homologous factor, belongs to the epithelium-specific subfamily of the larger E26 transformation-specific (ETS) transcription factor family. Currently, little is known about its function in cancer. We reported previously that ETS1 induces expression of the ZEB family proteins (ZEB1 and ZEB2), key regulators of the epithelial mesenchymal transition (EMT) through activating the ZEB promoter. Here, we found that EHF gene produces two alternative splicing variants, i. e. a long form variant included the first exon (EHF-LF) and a short form variant excluded the first exon (EHF-SF). Of these, only EHF-SF abrogates ZEB1-promoter activation by ETS1 and thus inhibits EMT phenotypes of cancer cells, whereas EHF-LF fails to do them. Most importantly, we identified a novel point mutation of EHF at the conserved ETS domain, and discovered that the mutation abolishes its original capacity and acts as potential haploinsufficiency, thus leading to enhancement of metastasis in vivo. Therefore, we suggest that EHF act as an anti-EMT factor to inhibit expression of ZEB and that mutation in EHF confer exacerbation of cancer.

Conflict of Interest: The author declares no conflict of interest.

O2-46 口腔扁平上皮癌細胞における化学ストレスによる JAK/STAT 系を介した PD-L2 発現

○首藤 俊一^{1,2}, 鍛冶屋 浩¹, 進 正史¹, 岡本富士雄¹, 平木 昭光², 岡部 幸司¹

¹福歯大 細胞分子生物

²福歯大 口腔・顎顔面外科

【目的】 PD-L2 は PD-L1 と同様に細胞傷害性 T 細胞 (CTL) による免疫チェックポイント受容体 PD-1 に結合し, CTL からの免疫回避に関与するリガンドの 1 つである. 最近, これら PD-1 受容体リガンドの発現分布が, がん細胞種により異なることが明らかになり, 頭頸部扁平上皮がんにおいても PD-L2 の発現が報告されている. しかしながら, PD-L2 の発現がどのような環境変化や刺激により誘導されるか, さらにどのようなシグナル経路により調節されるかは明らかでない. そこで我々は, 口腔扁平上皮癌細胞の PD-L2 の発現とその調節因子に関して探索を行った. 【材料および方法】 口腔扁平上皮癌細胞株である HSC-2 細胞を用い, 化学的ストレス刺激 (H₂O₂, 抗腫瘍剤) を与えた時の PD-L2 の発現およびその調節因子の発現変化を定量性 RT-PCR 法, ウェスタンブロット法, FACS 法及び免疫染色法により検討した. また, PD-L2 発現細胞における形質変化をコロニーアッセイ法, トランズウェル法及び悪性形質転換アッセイ法により検討した. さらに, 口腔癌と診断された患者に対して, 細胞診による癌細胞の検体採取後, 免疫染色にて PD-L2 の発現を調べた (福岡学園倫理審査認証番号 No.432). 【結果と考察】 化学的ストレス刺激に抵抗性を獲得した HSC-2 細胞において PD-L2 の遺伝子及びタンパク質の発現が上昇すると共に, 発現細胞数も増加した. この発現上昇は JAK/STAT 経路のリン酸化を介して調節された. また, PD-L2 発現陽性細胞は陰性細胞と比較して増殖能の変化はなかったが細胞浸潤能と悪性形質転換能が増加した. さらに, 口腔癌由来の上皮細胞には PD-L2 発現が認められた. 以上より, 口腔への化学的ストレスは口腔扁平上皮組織に PD-L2 の発現を上昇させ, がん細胞の増悪化の一要因と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 chemical stress induces Programmed cell death 1 ligand 2 (PD-L2) expression via JAK/STAT pathway in oral squamous cell carcinoma

○Sudo S^{1,2}, Kajiyama H¹, Shin M¹, Okamoto F¹, Hiraki A², Okabe K¹

¹Dep Physiol Sci Mol Biol, Fukuoka Dent Coll

²Dep Oral Maxillofac Surg, Fukuoka Dent Coll

Objects: PD-L2 was bound to PD-1 in cytotoxic T cells (CTL), resulting in immune escape from CTL. However, it is unclear the effect of chemical stress on the PD-L2 expression and its regulatory factors. The aim of present study is to clarify the expression of PD-L2 in oral squamous cell carcinoma cells and its regulatory factors. Materials and methods: We examined the effect of chemical stress on the expression of PD-L2 in HSC-2 cells and its regulators. The transformation assay in PD-L2 expressing cells was examined using colony, transwell and malignant transformation assays. Furthermore we examined the expression of PD-L2 in oral epithelium in cancer patient by cytology (certification No.432). Results and discussion: The PD-L2 expression increased in chemical resistant HSC-2 cells via the JAK/STAT pathway. The PD-L2 positive cells were upregulated in the cell infiltration and transformation abilities compared to negative cells, but in their proliferation. The PD-L2 expression was observed in epithelial cells derived from oral cancer. The results are suggested that chemical stress was induced the PD-L2 expression in the oral squamous tissue and it is to be a critical factor in the malignancy.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-47 Pontin/Reptin complex は、リボソーム合成関連因子 HEATR1 を安定化することで口腔扁平上皮癌進展に寄与する

○中村 彬彦¹, 木口 哲郎¹, 船山 昭典², 柿原 嘉人¹, 佐伯万騎男¹

¹新潟大 院医歯 歯科薬理

²新潟大 院医歯 組織再建口外

Pontin と Reptin は、真核生物において広く保存され、互いに 65% の相同性を有する AAA + (ATPases Associated with diverse cellular Activities) ファミリータンパク質である。細胞内においては、ヘテロな六量体リングである Pontin/Reptin complex を形成し、また、RPAP3-PIH1D1 と共に R2TP complex を形成してシャペロン活性サブユニットとして機能することが知られている。Pontin/Reptin は、クロマチンリモデリング複合体やテロメラーゼなどを標的とし、それらの四次構造形成シャペロンとして機能し、様々な癌の進展へ関与することが示唆されている。しかしながら、口腔扁平上皮癌進展における役割と分子メカニズムについては、未解明のままである。今回、我々は、口腔扁平上皮癌由来細胞を用いて、Pontin/Reptin の新規標的因子の探索を行った。抗 Reptin 抗体の免疫沈降によって共沈した一連のタンパク質群の質量分析解析にて、リボソームタンパク合成関連因子である HEATR1 (HEAT Repeat Containing 1) を見出した。HEATR1 は、タンパク質-タンパク質相互作用に関与する HEAT repeat モチーフを有しており、これまでに、リボソーム合成を介した p53 シグナル経路への関与が示唆されている。我々は、口腔扁平上皮癌細胞において、Reptin と Pontin の両者と HEATR1 が結合していることを共免疫沈降法とウェスタンブロッティングにて明らかにした。また、Pontin と Reptin 各々のノックダウンにて、HEATR1 のタンパク質レベルの低下を認めた。これら結果より、Pontin/Reptin は HEATR1 タンパク質を安定化させ、口腔扁平上皮癌の進展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。

Pontin/Reptin complex contributes to the development of oral squamous cell carcinoma by stabilizing HEATR1

○Nakamura A¹, Kiguchi T¹, Funayama A², Kakihara Y¹, Saeki M¹

¹Div Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

²Div Reconstruct Surg Oral Maxillofac Reg, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Pontin and Reptin are members of AAA + (ATPases Associated with diverse cellular Activities) superfamily of proteins. Both proteins are 65% homologous to each other and highly conserved in eukaryotes. These proteins form a hetero-hexameric ring, Pontin/Reptin complex. Pontin/Reptin is reported to be involved in telomerase assembly and chromatin remodeling as a quaternary chaperone. It has been suggested that this complex is associated with the development of various cancers. However, the molecular mechanism of Pontin/Reptin function in OSCC (Oral Squamous Cell Carcinoma) development remains unclear. To identify the target of Pontin/Reptin in OSCC, we performed an immunoprecipitation by using anti-Reptin antibody. Subsequently, mass spectrometry analysis identified HEATR1 (HEAT Repeat Containing 1), which is a ribosome biogenesis-related factor, as one of the targets. We confirmed that Pontin/Reptin interacts with HEATR1 in HSC4 cells. In addition, the knockdown of Pontin and Reptin reduced the protein levels of HEATR1. These results suggest that Pontin/Reptin could contribute to the development of OSCC by stabilizing HEATR1.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-48 4NQO 発癌モデルを用いた舌癌発生過程における血管の解析

○宇佐美 悠, 白銀陽一郎, 廣瀬 勝俊, 佐藤 淳, 豊澤 悟

阪大 院歯 口腔病理

【目的】腫瘍血管の新生は浸潤癌の特徴の一つである。これまで、口腔癌を含む様々な癌において血管新生の研究がなされているが、正常組織から浸潤癌に至る発癌過程における血管の変化については不明な点が多い。そこで、本研究では、ヒト口腔癌に類似した多段階発癌を引き起こす発癌物質 4-Nitroquinoline 1-oxide (4NQO) によるマウス化学発癌モデルを用いて、舌の発癌過程における血管新生について形態学的、免疫組織学的に解析した。【方法】C57BL/6 マウスに対し 4NQO 含有飲用水を 16 週間摂取させ、16 週間後、4NQO 非含有の飲用水に変更し、4NQO 発癌モデルを作製した。【結果と考察】4NQO 発癌モデルマウスにおいて継時的に形成される、扁平上皮過形成、異形成、上皮内癌および扁平上皮癌の各病変において血管密度を計測したところ、病変の進展に伴い血管密度が増加していた。免疫組織化学的・組織学的解析により血管の走行・構造を解析したところ、異形成の段階より既に血管の走行・構造に異常が認められた。血管構成細胞の増殖を検討したところ、浸潤癌の間質にのみ細胞増殖を伴う血管が見られた。血管新生誘導因子の発現および低酸素領域を検討したところ、異形成から上皮内癌で、異型上皮は低酸素状態を示しており、血管新生誘導因子の発現が見られる一方、浸潤癌では、血管新生誘導因子の発現が見られるものの、低酸素状態は認められなかった。浸潤癌では細胞増殖を伴う新生血管により、十分な酸素が供給され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。

Alteration of blood vessels during the tongue cancer development in 4NQO-induced carcinogenesis

○Usami Y, Shirogane Y, Hirose K, Sato S, Toyosawa S

Dept Oral Pathol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Angiogenesis is the process of new blood vessel formation, and is thought to be one of the crucial hallmarks for tumor development. Tumor angiogenesis has been extensively investigated in many human tumors including oral cancer. Although, the clinical studies suggest that angiogenesis could be an early event during multistep oral carcinogenesis, it is still unclear when and how the angiogenesis starts in pre-malignant lesion. In this study, we choose the mouse 4-Nitroquinoline 1-oxide (4NQO) oral carcinogenesis model to investigate the angiogenesis during the multistep carcinogenesis, which allow us to obtain and analyze the samples from all stages of the carcinogenesis.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-49 骨基質に貯蔵された miR-125b は溶骨性骨転移を抑制する

○Sarmin Nushrat, 南崎 朋子, 吉子 裕二
広大院医歯薬保 硬組織代謝生物

miR-125b accumulated in bone matrix suppresses osteolytic bone metastasis

○Sarmin N, Minamizaki T, Yoshiko Y

Dept Calcif Tissue Biol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

Purpose: Matrix vesicles (MVs) budding from osteoblasts play a key role in bone mineralization, while their additional functions in bone are postulated. Recently we found that MVs conveys a number of microRNAs (miRNAs) from osteoblasts to bone matrix. Of these, we found that miR-125b released from bone matrix inhibits osteoclast formation by targeting the transcription repressor *Prdm1*. Transgenic (Tg) mice overexpressing miR-125b under the control of the human osteocalcin promoter have high bone mass with decreased numbers of osteoclasts. We then hypothesized that miR-125b in bone matrix and/or MVs may affect osteolytic bone metastasis. **Materials & Methods:** We used the mouse osteoblast MC3T3-E1 cells, primary osteogenic cells from fetal rat calvariae, and the human prostate cancer PC-3, human breast cancer MCF-7 and murine mammary carcinoma PY8119 cells. MTT and EdU assays, healing assay, and transwell assay were used to determine the effects of miR-125b mimic and MVs on cell proliferation, migration and invasion, respectively. qRT-PCR was used to quantify miR-125b levels. PY8119 cells tagged with luciferase were injected into wild-type (WT) and Tg mice via the caudal artery, and osteolytic metastasis was evaluated by in vivo bioluminescence imaging, micro-CT, and histological analysis. **Results & Conclusion:** Not only MVs but also miR-125b mimic suppressed cancer cell activities without effects on osteogenic cell proliferation and differentiation. Levels of miR-125b in cancer cell lines were extremely lower than those in MC3T3-E1 cells and MVs. In vivo study revealed that bioluminescence signals were detected as early as day 17 post-injection in WT mice but not in Tg mice. These signals at day 21 post-injection were significantly lower in Tg than WT mice, in proportion to PY8119 cell mass in WT vs. Tg femurs. Osteolytic bone destruction with increased numbers of osteoclasts in PY8119-injected WT mice was more obvious than those in PY8119-injected Tg mice. These data suggest that miR-125b in bone matrix can suppress bone metastasis not only by inhibiting osteoclastogenesis but also by directly suppressing cancer cell activities. Target genes of miR-125b in cancer cells are currently under investigation.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-50 テロメア構造結合性新規化合物の抗癌効果の検討

○福田 晃¹, 東 泉², 大住 伴子², 竹内 弘²

¹九歯大 顎顔面外科

²九歯大 口腔応用薬理

【目的】 テロメラーゼはテロメア反復配列 (TTAGGG) を染色体末端に伸長させる酵素であり, 多くの癌組織の 80% 以上で過剰発現を認めるため, 抗癌剤の新たな標的として期待される. 本研究では, テロメア反復配列が細胞内で特徴的な 4 本鎖構造を形成することに着目し, 同構造に結合する環状ナフタレンジイミド (cyclic naphthalene diimide; cNDI) および環状アントラキノン (cyclic anthraquinone; cAQ) のテロメア DNA 構造への特異性を向上させた誘導体について, 複数の口腔癌由来細胞株および正常細胞に対する増殖抑制効果を比較検討した. **【材料および方法】** cNDI 誘導体及び cAQ 誘導体は, 九州工業大学の竹中らから供与を受けた. ヒト口腔癌由来細胞株 Ca9-22, SAS, HSC-2, KB および不死化ヒト細胞株 HaCaT, HEK293 およびヒト正常上皮角化細胞ならびにマウス大腿骨より調製した骨髄細胞を用い, WST-8 による細胞増殖活性と RT-PCR による遺伝子発現を検討した. **【結果】** 検討した全ての化合物は用量依存的に細胞増殖を抑制した. 中でも cAQ-mBen の ID50 値による細胞増殖抑制効果は, 各細胞株における TERT 遺伝子の mRNA 発現レベルと高い関連性を示した. さらに cAQ-mBen による細胞増殖抑制効果は, CDDP との比較において, ヒト正常角化細胞やマウス骨髄細胞と比べて癌由来細胞株に対し, 強い細胞増殖抑制効果を示した. **【結論】** cNDI および cAQ 誘導体は, 癌特異性を向上させた新規抗癌剤として有望であると考えられた. 会員外共同研究者: 佐藤しのぶ, 竹中繁織 (九州工業大学工学研究院物質工学研究系応用化学部門・バイオマイクロセンシング技術研究センター)

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Anti-canceractivity of novel ligands for the telomere structure

○Fukuda H¹, Higashi S², Ohsumi T², Takeuchi H²

¹Kyushu Dent Univ Div Oral Maxillofac Surg

²Kyushu Dent Univ Div Appl Pharmacol

Objectives: Telomerase extends telomeric repeat sequence to the end of chromosome and is overexpressed in more than 80% of various cancer tissues. Thus, ligands for the unique tetraplex structure formed by telomeric repeat sequence have been expected as candidates for anti-cancer drugs. In this study, we examined the effects of the derivatives of Cyclic naphthalene diimide (cNDI) and cyclic anthraquinone (cAQ) with different linker chains to improve specific binding for the unique structure. **Materials & Methods:** cNDI and cAQ derivatives were synthesized by Prof. Takenaka (Kyushu Institute of Technology). Cell proliferation of human oral cancer-derived cell lines Ca9-22, SAS, HSC-2, KB and immortalized human cell line HEK293, mouse bone marrow cells (BMCs), and human normal epidermal keratinocytes were examined using WST-8-based colorimetric assay. **Results:** Both cNDI and cAQ derivatives effectively suppressed cell proliferation in a dose-dependent manner. Some of them tended to correlated with the expression level of TERT. In addition, they inhibited cell growth of cancer-derived cell lines more strongly compared to human normal keratinocytes and mouse bone marrow cells. **Conclusion:** cNDI and cAQ derivatives are considered to be promising as novel anticancer agents with improved cancer specificity. **Non-member collaborators:** Shinobu Sato, Shigeori Takenaka (Kyushu Institute of Technology)

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-51 新しい腫瘍オルガノイド多元評価システムの開発

○十川チハル¹, 江口 傑徳^{1,4}, 大山 和美¹, 奥舎 有加¹, 中野 敬介², 十川 紀夫³, 岡元 邦彰¹

¹岡大 院医歯薬 歯科薬理, ²岡大 院医歯薬 口腔病理, ³松歯大 歯 歯科薬理, ⁴岡大 歯 先端領域研究セ

【背景】癌の転移は、原発巣からの浸潤、血管内への侵入、転移先臓器での定着等の過程を経て成立する。本研究では、癌の浸潤・転移過程における腫瘍微小環境変化、すなわち上皮間葉転換、基底膜細胞外マトリックス分解、腫瘍血管形成を統合的に評価できる新規薬剤スクリーニング系を開発することを目的とする。【方法】癌促進性プロテアーゼであるマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) 9 発現機構に着目し、MMP9 高発現肺転移性マウス大腸癌由来 LuM1 細胞をもとに MMP9 プロモーター蛍光レポーター細胞 (LuM1/m9) を構築した。また、三次元培養を行い、腫瘍オルガノイド形成と MMP9 発現を多元評価出来るシステムを構築した。【結果・考察】マウス MMP9 プロモーター領域には腫瘍形成性幹細胞シグナルとして知られている β -catenin/TCF/LEF 結合部位が複数存在してため、Wnt/ β -catenin 経路を刺激する LiCl を LuM1/m9 に作用させたところ、MMP9 プロモーター活性と腫瘍オルガノイド形成を促進することがわかった。大腸癌治療の第一選択薬である 5-フルオロウラシルは、腫瘍オルガノイド形成は阻害したが、MMP9 プロモーター活性を阻害しなかった。また、抗マラリア薬で、近年 Wnt/ β -catenin 経路を阻害することにより抗腫瘍効果を示すとの報告があるアルテスネートについて検討したところ、腫瘍オルガノイド形成、MMP9 プロモーター活性ともに阻害していた。さらに、これまでに腫瘍オルガノイド形成阻害を確認している薬剤群について、本システムを用いて評価した結果、腫瘍オルガノイド形成と MMP9 プロモーター活性の両方を阻害する薬剤が見出された。【文献】1. Sogawa C et al, Tissue Eng Part A. 2019.; 2. Eguchi T et al., PLoS One 2018.

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Development of a tumor organoid-based drug screening system

○Sogawa C¹, Eguchi T^{1,4}, Ohshima K¹, Okusha Y¹, Nakano K², Sogawa N³, Okamoto K¹

¹Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

²Dept Oral Pathol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

³Dept Dent Pharm, Matsumoto Dent Univ

⁴Adv Res Cent Oral and Craniofac Sci, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

Cancer is one of the most serious diseases all over the world, especially metastasis and drug resistance are leading causes of death. There is an urgent need to establish new strategies for drug discovery. Matrix metalloproteinases (MMPs) represent the most prominent family of proteinases associated with tumorigenesis and are regulators of tumor milieu. The cancer stem cell model fits well with tumorigenesis, metastasis and drug resistance. We have shown that cancer cell aggregation led to hypoxic tumoroids with marked upregulation of reprogramming and stemness genes as increased cancer stem cell using a 3D culture system. In the present study, we established a novel MMP9 promoter-driven cell-based reporter system using a rapidly metastatic colon cancer cell in 3D culture that evaluates cancer stemness and invasiveness. We used a concept of drug repositioning—using known molecules for new indications. We selected several compounds with inhibition to both tumoroid formation and MMP9 promoter activity. One of the compounds inhibited MMP9 secretion, invasion, primary tumor formation and metastasis in vivo.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-52 下顎第二大臼歯における溝型・咬頭数と歯冠サイズの関係

○近藤信太郎¹, 真鍋 義孝²

¹日大松戸歯 解剖

²長大 院医歯薬 顎顔面解剖

【目的】下顎第二大臼歯の溝型と咬頭数が歯冠サイズとどのような関係にあるかを明らかにするために歯冠をトリゴニッドとタロニッドに分けて分析した。【材料と方法】材料は日本人男性 220 個体の石膏模型である。第二大臼歯の歯冠近遠心径と頬舌径, トリゴニッドとタロニッドの近遠心径と頬舌径をデジタルノギスで計測し, 溝型および咬頭数を観察した。トリゴニッドとタロニッドの境界は頬側溝の咬合縁との交点から中心溝との交点の中点とした。近遠心径と頬舌径を掛けたものを歯冠面積とした。指数として歯冠指数 (頬舌径を近遠心径で除して 100 を掛けたもの) とタロニッド面積百分率を算出した。溝型および咬頭数を要因とする二元配置により歯冠サイズとの関係を分析した。【結果と考察】溝型は+型が多く (64.1%), Y 型は少なかった (12.7%)。咬頭数は 4 咬頭より 5 咬頭の方が多かった (54.5%)。溝型・咬頭数パターンでは+4 型が多く (36.4%), Y4 型が少なかった (0.9%)。二元配置を行なった結果, 溝型・咬頭数の交互作用は有意となった項目はなかった。各要因が有意となった項目を基にサイズの関係を検討し, 以下の結果を得た。歯冠近遠心径, 頬舌径は 5 咬頭で大きかった。トリゴニッドのサイズは X 型で大きく, タロニッドのサイズは 5 咬頭, Y 型で大きかった。歯冠指数は 4 咬頭でやや大きい傾向がみられるが, 溝型・咬頭数のいずれの要因も有意とはならなかった。5 咬頭では近遠心径・頬舌径ともに大きい, すなわち, 歯冠全体のサイズが大きくなった。この結果は, カラベリー結節と歯冠サイズの関係と類似しており (Kondo and Townsend, 2006), 大きい歯で 5 番目の咬頭を分化する傾向が強いことが示唆される。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Associations between groove/cusp pattern and crown size in mandibular second molars

○Kondo S¹, Manabe Y²

¹Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

²Dept Oral Anat Dent Anthropol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Association between groove/cusp pattern and crown unite sizes was analyzed in the mandibular second molars. The materials were the 220 plaster casts of Japanese males. We measured the overall crown sizes (mesiodistal and buccolingual crown diameters), and the crown unite sizes (mesiodistal and buccolingual crown diameters in the trigonid and talonid) using by a digital caliper. The definition of the border between the trigonid and talonid was the midpoint between the mesial central fossa and the intersection of the buccal groove with protoconid-hypoconid ridge. The + pattern (64.1%) was the most frequently found, and less Y pattern (12.7%). The 5-cusp (54.5%) was more frequently than the 4-cusp. The +4 pattern (36.4%) was the most frequently found, but the least was Y4 pattern (0.9%). The relationship with crown sizes were analyzed by two-way ANOVA with groove pattern and cusp number as the factors. The overall crown sizes were larger in the 5-cusp. The trigonid was larger in X pattern, but the talonid was larger in Y pattern.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-53 歯周病で抜去した上下顎第二大臼歯歯根の癒合部位の分類と癒合歯根の溝の深さ

○加藤 彰子¹, 三谷 章雄², 本田 雅規¹

¹愛院大 歯 口腔解剖, ²愛院大 歯 歯周病

【目的】レプリカ模型を用いて正常な大臼歯の歯根表面にみられる陥凹の深さなどの報告は散見されるが、歯周病により抜去された大臼歯についての報告はない。そこで、本研究では歯周病が原因で抜去された第二大臼歯の歯根癒合部位の分類と癒合した歯根にみられる溝の深さについて、マイクロフォーカス X 線 CT (マイクロ CT) 画像を用いて検討したので報告する。【方法】本研究は愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認を得て行った (no.355)。2013 年 12 月から 2017 年 3 月までの 3 年 4 か月間に、愛知学院大学歯学部附属病院歯周病科診療部で歯周治療に伴い抜去された上顎第二大臼歯 (36 本) および下顎第二大臼歯 (22 本) を対象とした。マイクロ CT 撮像を行いレンダリング画像により歯根の癒合部位について分類し、水平断面像を用いて溝の深さを Image J (1.44, NIH) で計測した。【結果】上顎第二大臼歯の 23 歯 (64%) に歯根癒合が認められ、そのうち 11 歯 (48%) は頰側 2 歯根が癒合する 1 型、5 歯 (22%) は 3 歯根が円錐型に癒合する 6 型、3 歯 (13%) は口蓋根が頰側 2 歯根と U 字形に癒合する 5 型であった。1 型歯根にみられる溝の平均深さは頰側で 1.63 mm, 遠心で 1.33 mm, 近心で 0.97 mm であった。下顎第二大臼歯で歯根癒合の認められた 14 歯 (64%) のうち 12 歯 (86%) が槌状根であった。槌状歯根は全て頰側で癒合し舌側に溝が認められ、溝の深さは平均 2.31 mm であった。【考察】日本人における歯根癒合の出現頻度は上顎第二大臼歯で 36% および下顎第二大臼歯で 30% と報告されている (藤田 1949)。すなわち、本研究の結果は、大臼歯の歯根癒合が歯周病を進行させる危険因子になることを示唆している。【結論】歯周病が原因で抜去された第二大臼歯歯根の癒合の出現頻度は正常歯と比較して高い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。

Assessment of root fusion and the depth of root groove in the maxillary and mandibular second molars lost by periodontal disease progression

○Kato A¹, Mitani A², Honda M¹

¹Dept Oral Anat, Sch Dent, Aichi Gakuin Univ, ²Dept Periodontol, Sch Dent, Aichi Gakuin Univ

Purpose: Many studies have been focused on normal root morphology on molars, however, little is known regarding the root morphology of molars lost by periodontal disease. The purpose of this study was to assess the root fusions and grooves of maxillary and mandibular second molars lost by periodontal disease using micro-CT. Methods: The research protocol was approved by the ethics committee of Aichi Gakuin University (Protocol #355). From December 2013 to March 2017, maxillary (n=36) and mandibular (n=22) second molars were collected from Japanese patients treated at the clinical department of periodontology, Aichi Gakuin University school of dentistry hospital. Root fusions and the depth of root groove was assessed by micro-CT scanned image. Results: Root fusion was observed in 23 (64%) maxillary second molars, among which 11 (48%) were type 1. In the mandibular second molars, 14 (64%) teeth had root fusion, in which 12 (86%) had C-shaped roots. Discussion: We observed a higher frequency of root fusion in this study compared with that reported by conventional studies (36% maxillary and 30% mandibular M2), which suggests that root fusion is an important risk factor in the progression of periodontal disease.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-54 ラット歯髄細胞の石灰化物形成における糖化最終産物 (AGEs) の影響

○杉山 敬多¹, 三浦 治郎¹, 高島 葵¹, 清水 真人¹, 萱島 浩輝²

¹阪大 院歯 総診, ²阪大 院歯 クラウンブリッジ

慢性糖尿病患者には歯髄腔狭窄や歯髄結石が高頻度に認められ、この病態は歯髄における高血糖の持続が関与していると考えられている。我々は糖尿病モデルラットにおいて歯髄内の病的石灰化物の形成を捉え、その解析から持続的高血糖により体内で形成される糖化最終産物 (AGEs) が同部位に蓄積し、歯髄内では血流障害や細胞傷害性の炎症反応が亢進していることを確認した。しかしこれらと石灰化物形成の関連は不明な点が多かった。そこで AGEs 含有 scaffold モデルとして糖化コラーゲンディッシュを作製し、AGEs の培養歯髄細胞への影響及び AGEs 含有糖化コラーゲンによる結晶析出能を検討することとした。Type1 コラーゲンをコート後 DL-glyceraldehyde により糖化したディッシュを本実験に用いた。6 週齢雄性 SD ラットの切歯より採取した歯髄細胞を用いて、WST-1 増殖試験、ALP 染色、Alizarin Red 染色及び TEM, SEM による観察、並びに石灰化関連遺伝子について real time RT-PCR を行った。また石灰化誘導培地を経時的に採取し LDH による細胞傷害試験を行った。また無細胞条件にてリン酸カルシウム溶液を糖化コラーゲンに作用させ結晶析出様相を TEM, SEM にて観察した。AGEs は歯髄細胞の増殖、分化に影響を及ぼさない一方で石灰化結節の形成を有意に促進し、TEM, SEM においては細胞周囲に顆粒状の石灰化物が確認された。また石灰化関連遺伝子の発現に有意な影響を及ぼさなかった。石灰化誘導後 9 日目から糖化コラーゲンディッシュにおける培地中の LDH 活性は亢進した。無細胞条件において糖化コラーゲンがアパタイト結晶形成に関与していることが分かった。以上のことから AGEs 含有糖化コラーゲンにおける培養で細胞障害が起こり同時期より石灰化顆粒の析出が認められることが新たに分かった。これは、糖化コラーゲンが結晶析出に有利な微小環境を有することなどが考えられ、培養歯髄細胞の石灰化物形成を大いに修飾していると示唆される。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

The effects of advanced glycation end products (AGEs) on calcification in cultured rat dental pulp cells

○Sugiyama K¹, Miura J¹, Takashima A¹, Shimizu M¹, Kayashima H²

¹Div Interdisci Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent, ²Dept Fixed Prosthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent

Pulp stones have been reported in patients with type II diabetes mellitus. We have previously reported diffuse calcifications in dental pulp tissues of type II diabetes model rats, revealing associations between this calcification and advanced glycation end-products (AGEs) or cytotoxic inflammatory response. The aim of this study was to elucidate the effects of AGEs on the calcification ability of cultured rat dental pulp cells (RDPCs) and to investigate the crystallization ability of glycosylated collagen itself. AGEs were prepared with non-enzymatic glycation of type I collagen-coated dish by DL-glyceraldehyde. To investigate the effects of AGEs on RDPC, we performed WST-1 assay, ALP staining, Alizarin-Red staining, LDH assay, RT real-time PCR and SEM and TEM observation. In addition, we performed crystallization of calcium phosphates on glycosylated collagen and observed crystals. AGEs do not affect RDPC proliferation or differentiation, but appear to enhance calcification and LDH activity. In addition, major calcification-related genes may not be involved in this calcification. Glycosylated collagen enhanced crystallization of calcium phosphate in a cell-free system. Glycosylated collagen consisting of AGEs is considered to have cytotoxicity and advantageous microenvironment for crystallization. This suggests that glycosylated collagen has some great effect on calcification on RDPC.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O2-55 肥満型 2 型糖尿病モデル TSOD マウスにおける口腔組織の経時的変化

○依田 浩子, 大島 勇人

新潟大 院医歯 硬組織形態

【目的】糖代謝は器官形成において細胞動態を制御する重要なエネルギー代謝であり、歯および唾液腺組織の発育においても糖代謝調節が重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。本研究では長期間持続する高血糖状態が口腔組織の恒常性維持に及ぼす影響について、肥満型 2 型糖尿病モデル TSOD マウスを用いて解析した。【方法】生後 12 週齢から 52 週齢の TSOD マウスおよび対照の TSNO マウスを 4% PFA で灌流固定後、歯および顎下腺をはじめとする口腔組織について、マイクロ CT, EPMA 解析ならびに免疫組織化学的解析を行った。さらに、正常マウス初代歯髓培養細胞および歯根膜培養細胞を用いて、高血糖状態による遺伝子発現変化について in vitro 系にて解析した。【結果と考察】生後 12 週齢以降の TSOD マウスの臼歯では、第三象牙質の添加、歯髓結石の形成および歯根セメント質の肥厚が認められ、これらの変化は加齢に伴い顕著になった。In vitro 実験では高血糖培養下で歯髓細胞および歯根膜細胞のオステオポンチンおよび β -カテニン遺伝子発現が上昇し、硬組織形成が促進される可能性が示唆された。TSOD マウスの顎下腺組織では、腺房細胞が腫大化しびまん性に配列し、小葉構造の萎縮と消失が確認された。また、高齢 TSOD マウスでは口腔組織の血管周囲に終末糖化産物 (AGEs) の沈着が顕著に認められた。以上の所見より、長期間にわたる高血糖状態が口腔組織の恒常性維持に影響を及ぼすことが示された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Chronological changes in oral tissues of obese type 2 diabetes model TSOD mice

○Ida-Yonemochi H, Ohshima H

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

Glucose metabolism is an important energy metabolism to control cell kinetics in organogenesis including tooth and salivary gland development. This study aimed to elucidate the effect of long-term hyperglycemia in oral tissue homeostasis. We performed morphological analysis of oral tissues in obese type 2 diabetes model TSOD mice from 12 weeks to 52 weeks old. In molar teeth of aged TSOD mice, tertiary dentin formation, deposition of pulp stone and hyperplasia of acellular cementum were remarkable. In the cell culture experiment, mRNA expressions of osteopontin and beta-catenin were elevated by high glucose condition in the dental pulp and periodontal ligament cells. In the submandibular glands, acinar cells were swollen and distributed diffusely with the atrophic change in the lobular structures. In addition, the deposition of advanced glycation end products (AGEs) was obvious in the perivascular areas of oral tissues in aged TSOD mice. These findings suggest that the state of long-term hyperglycemia affects the homeostasis of oral tissues.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O3-01 古典的 Wnt シグナルによるデンティンブリッジ形成機構の解析

○原 弥革力, 堀部 寛治, 平賀 徹, 中村 浩彰

松歯大 口腔解剖

【目的】歯髄を保存し、象牙質を効率的に修復できる治療法が歯科臨床で求められており、近年では修復象牙質形成に古典的 Wnt シグナルが関与していると報告されている。しかし、その過程における詳細なメカニズムには不明な点が多く、古典的 Wnt シグナル伝達に関与する因子の局在について免疫組織化学的に解析した。【方法】マウスの上顎第一臼歯にラウンドバーにて窩洞形成し、露髄後 MTA セメントにて直接覆髄した。処置後 4, 7, 14, 28 日に上顎骨を摘出し 4% パラホルムアルデヒド溶液で固定した。μCT にて硬組織形成の有無を確認後、10% EDTA にて 4℃, 2 週間脱灰し、パラフィンに包埋した。厚さ 4 μm の切片を作製し、Wnt3a, Wnt10a, β-catenin, F4/80, Osterix の局在を免疫組織化学染色にて検討した。【結果】直接覆髄後 4 日, 7 日では覆髄部周辺の象牙芽細胞と歯髄細胞が Wnt3a, Wnt10a, β-catenin の局在を示した。直接覆髄後 14 日では覆髄部周辺に修復象牙質が形成されており、その表面に配列した修復象牙芽細胞とその周辺の歯髄細胞に Wnt3a, Wnt10a, β-catenin の局在が認められた。また、歯髄中央部には Wnt10a と F4/80 の局在を示すマクロファージがみられ、その数が直接覆髄後 14 日で最も増加していることが定量結果から明らかになった。直接覆髄後 28 日ではデンティンブリッジが形成されており、その表面に接した修復象牙芽細胞に Wnt3a, β-catenin, Osterix の局在が観察された。【考察】以上の結果から、修復象牙芽細胞の分化に古典的 Wnt シグナルが関与し、直接覆髄後初期のデンティンブリッジ形成には、象牙芽細胞と歯髄細胞由来の Wnt が重要であり、後期においてはこれらに加え、マクロファージ由来の Wnt が修復象牙質形成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。

Analysis of dentin bridge formation mechanism by canonical Wnt signaling

○Hara M, Horibe K, Hiraga T, Nakamura H

Dept Oral Anat, Matsumoto Dent Univ

Purpose: Wnt signal is reported to be involved in dentin bridge formation. However, the detailed mechanism in this process is unknown. We elucidated the localization of the canonical Wnt signal molecules during dentin bridge formation. **Methods:** Pulp exposure was prepared in the maxillary first molar of the mouse and directly capped with MTA cement. The maxillae were removed on day 4th, 7th, 14th and 28th after treatment. After μCT analysis, 4-μm paraffin sections were used for immunohistochemistry of Wnt3a, Wnt10a, β-catenin, F4/80 and Osterix. **Results:** On day 4th and 7th after pulp capping, odontoblasts and dental pulp cells expressed Wnt3a, Wnt10a and β-catenin. Reactionary dentin was formed on day 14th, then reparative odontoblasts and dental pulp cells expressed Wnt3a, Wnt10a and β-catenin. Additionally, F4/80 and Wnt10a positive macrophages were observed in the center of the dental pulp. Dentin bridge was formed on day 28th, and reparative odontoblasts expressed Wnt3a, β-catenin and Osterix. **Conclusion:** These results suggest that Wnt derived from odontoblasts and dental pulp cells is important for reparative odontoblast differentiation at early stage of dentin bridge formation. Macrophage-derived Wnt is also involved in reparative odontoblast differentiation at late stage.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O3-02 象牙芽細胞の枯渇は象牙質形成を誘導する

○趙 麗娟¹, 荒井 敦², 宇田川信之³, 細矢 明宏⁴, 岡部 幸司⁵, 進 正史⁵,
李 憲起⁶, 小林 泰浩¹, 高橋 直之¹, 溝口 利英⁷

¹松歯大 研究所, ²松歯大 矯正, ³松歯大 口腔生化, ⁴北医療大 歯 組織, ⁵福歯大 細胞生理, ⁶松歯大 顎顔面外, ⁷東歯大 口腔科学研究セ

【目的】 歯科治療のために窩洞を形成した歯の髄腔側では、象牙芽細胞による石灰化が亢進する。以上は、失われた硬組織を補填する生体防御反応であり、臨床現場では、より早期の修復象牙質形成が求められる。この過程において、窩洞形成にともない象牙芽細胞の細胞死が誘導され、引き続き新生象牙芽細胞の出現が観察される。しかしながら、象牙芽細胞死と修復象牙質の形成との関係は良く分っていない。今回、我々は、遺伝子改変マウスを用いて、ジフテリア毒素(DT)投与により象牙芽細胞を特異的に死滅させる実験系を構築した。この実験系を用い、修復象牙質の形成に対する象牙芽細胞死の重要性を調べることを目的とした。【方法と結果】 I型コラーゲンのプロモーター[Col1(2.3)]の制御下でGFPを発現するマウスの上顎の第一臼歯を回収した。凍結切片を作製し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。その結果、象牙芽細胞にGFPの発見が特異的に観察された。したがって、歯髄組織において、Col1(2.3)は象牙芽細胞特異的なマーカーであることが示された。そこでCol1(2.3)-Cre/flox-stop-flox-ジフテリア毒素受容体(DTR)マウスを作製した。Col1(2.3)-Cre/DTRマウスにDTを投与し、象牙芽細胞を特異的に死滅させた。1週間後に修復象牙質形成をカルセインラベルにより観察した。その結果、コントロールマウス(DTR)の象牙質にはカルセインの取り込みは認められなかった。一方Col1(2.3)-Cre/DTRマウスの象牙質にはカルセインの取り込みが認められた。【結論】 以上の結果より、象牙芽細胞の枯渇が新生象牙質を誘導することが明らかになった。すなわち象牙芽細胞死を引き金とした、象牙芽細胞の再生および新生象牙質の形成を調節する歯髄環境の存在が示唆された。非会員共同演者：各務秀明(松歯大) 【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Depletion of odontoblasts induces dentin formation

○Zhao L¹, Arai A², Udagawa N³, Hosoya A⁴, Okabe K⁵, Shinn M⁵, Li X⁶, Kabayashi Y¹,
Takahashi N¹, Mizoguchi T⁷

¹Inst for Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, ²Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ, ³Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ, ⁴Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ⁵Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll, ⁶Dept Oral Maxillofac Surg, Matsumoto Dent Univ, ⁷Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll

[Background/Objective] Tertiary dentin formation is induced in response to dental cavity preparation for dental treatment. In this process, cavity preparation induces odontoblastic cell death and odontoblasts are regenerated from dental pulp stem cells, resulting in induced reparative dentin formation. However, the relationship between odontoblastic cell death and the regulation of dentin formation is unclear. In this study, we examined the effects of odontoblastic depletion on dentinogenesis activation. [Methods] (1) To confirm specific expression of type I collagen α (ColI) in odontoblasts, we observed cryosections of first molars from ColI-GFP mice, which express GFP under the control of a 2.3-kb fragment of the ColI [ColI(2.3)] promoter. (2) ColI-Cre/ROSA26-loxP-stop-loxP-diphtheria toxin (DT) receptor (DTR) mice were administered DT for 1 week to deplete ColI⁺ odontoblasts. One week after the final DT injection, newly formed dentin was observed by calcein labeling. [Results] (1) The expression of ColI(2.3) promoter-inducible GFP was only detected in odontoblasts, confirming that ColI(2.3)-Cre was specifically expressed in odontoblasts. (2) Calcein-labeled dentin was observed in odontoblast-depleted mice but not in control. [Conclusion] These results suggest that there is a dental pulp niche environment regulated by odontoblastic cell death and that this regulatory network is essential for the activation of dentin formation. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

O3-03 破歯/破骨細胞形成を負に制御する歯髄環境の解析

○西田 大輔¹, 荒井 敦², 宇田川信之³, 中村美どり³, 堀部 寛治⁴, 小林 泰浩⁵,
高橋 直之⁵, 溝口 利英¹

¹東歯大 口腔科学研究セ, ²松歯大 矯正, ³松歯大 口腔生化, ⁴松歯大 口腔解剖, ⁵松歯大
総歯研

【背景】骨の内部の骨髄組織には破骨細胞が存在し、骨の恒常性維持に働く。一方、歯髄組織は象牙質で囲まれているが、破歯細胞(以下、破骨細胞)は存在しない。以上は、歯髄には、破骨細胞の形成を抑制する分子機構が存在することを示唆する。これまで、osteoprotegerin (OPG)が、歯髄組織の破骨細胞形成を抑制することが示された(J Dent Res 94:821, 2015)。本研究は、OPG 欠損マウスを用いて、歯髄における破骨細胞の抑制機構を解明することを目的とした。【方法と結果】(1)歯髄における破骨細胞分化調節因子の発現を調べた結果、RANKL, M-CSF, OPG の発現が認められた。(2)酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ(TRAP)およびカタペシン K をマーカーとして、野生型(WT)と OPG 欠損マウスの歯髄および歯槽骨における破骨細胞を観察した。その結果、OPG 欠損マウスの歯槽骨では、WT マウスよりも多くの破骨細胞が存在した。一方、WT だけでなく、OPG 欠損マウスの歯髄組織にも破骨細胞は認められなかった。(3)CD31 と VE-カドヘリンを血管マーカーとして、CD45 と Ter119 を血球系細胞マーカーとして用いて、WT マウスの歯髄組織を観察した。その結果、歯槽骨組織全体に豊富な血球系細胞が認められた。一方、歯髄では、血球系細胞の局在は血管内部にのみ認められた。(4)OPG 欠損および WT マウスの臼歯に外部刺激を加え、破骨細胞の出現の有無を調べた。その結果、OPG 欠損マウスの歯髄に破骨細胞は出現したが、WT では出現しなかった。【結論】以上の結果は、正常な歯髄における破骨細胞形成抑制に OPG が関与しないことを示唆する。また、正常な歯髄には、破骨細胞前駆細胞が存在しないことが示唆された。一方、破骨細胞前駆細胞が歯髄に出現する環境下では、OPG が破骨細胞分化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。

Analysis of negatively regulated odontoclast/ osteoclast formation in dental pulp environment

○Nishida D¹, Arai A², Udagawa N³, Nakamura M³, Horibe K⁴, Kobayashi Y⁵, Takahashi N⁵,
Mizoguchi T¹

¹Tokyo Dent Coll, Oral Health Sci Cent, ²Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ, ³Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ, ⁴Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ, ⁵Inst for Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

[Background] Osteoclasts are localized in bone marrow (BM) along the bone surface. In contrast, odontoclasts, hereafter termed osteoclasts, do not exist in dental pulp (DP), which is surrounded by dentin. These observations suggest that there is an inhibitory mechanism of osteoclastogenesis in DP. According to previous studies, osteoprotegerin (OPG) may inhibit osteoclastogenesis in DP (J Dent Res 94:821, 2015). We examined the regulation of osteoclastogenesis in DP using OPG-knock-out (KO) mice. [Methods and Results] (1) The expression of the osteoclast regulatory factors RANKL, M-CSF and OPG was detected in dental tissue. (2) There were more osteoclasts in alveolar bone from OPG-KO than in that from WT, but there were none in DP from WT or OPG-KO. (3) Hematopoietic cells were observed throughout the alveolar BM cavity. However, they were only localized in CD31- and VE cadherin-positive blood vessels in DP. (4) Replantation of the molar induced osteoclastogenesis in DP in OPG-KO, but not in WT. [Conclusion] This study demonstrated that OPG is not related to the inhibitory effects of osteoclastogenesis in DP in the healthy state. As osteoclast precursors do not exist in normal DP, osteoclastogenesis is not induced. On the other hand, OPG exhibited inhibitory effects on osteoclastogenesis when osteoclast precursors migrated to DP.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O3-04 *Parp-1*^{-/-}老化マウスにおける切歯の異形成について

○藤原 久子^{1,2,3}, 野崎 中成^{1,4}, 井角 麻佑⁵, 下田 信治⁶, 濱田 良樹², 益谷美都子^{1,5}

¹国立がんセ 研, ²鶴大 歯 口腔顎顔面外科, ³鶴短大 歯衛科, ⁴大歯大 歯 薬理, ⁵長大院医歯薬 フロンティア生命科学, ⁶鶴大 歯 口腔解剖

ポリ ADP-リボース合成酵素-1 (Parp-1) は NAD を基質としてタンパク質のポリ ADP-リボシル化を行い, DNA 修復応答や転写制御に関わる. 本研究において, ICR/129Sv 系統の *Parp-1* ノックアウト (*Parp-1*^{-/-}) マウス (110 週齢) では, 野生型 (*Parp-1*^{+/+}) マウスと比較して, 自然発症による切歯の異形成が有意に認められた. C57BL/6 系統を用いても検証したが, HE 染色による病理組織学的解析で同様の結果であった. 従って, *Parp-1* 遺伝子欠損が, 加齢に伴う切歯の異形成に関与することが示唆された. 以下, ICR/129Sv 系統マウスを用いてさらに解析を行った. CT 検査を行い 3 次元的立体構造を比較したところ, *Parp-1*^{-/-}老化マウスでは, 切歯の異形成の発症頻度は有意に高かった ($p < 0.05$). 切歯の相対的石灰化度を比較したところ, *Parp-1*^{-/-}老化マウスでは, エナメル質と象牙質の相対的石灰化度が *Parp-1*^{+/+}老化マウスと比較して有意に高かった ($p < 0.05$). 次に Parp-1, 象牙質シアロタンパク質 (DSP), 骨シアロタンパク質 (BSP) の発現を免疫組織学的手法を用いて調べた. *Parp-1*^{+/+}老化マウスでは, エナメル芽細胞と象牙芽細胞に Parp-1 の発現が認められた. 更に, *Parp-1*^{-/-}老化マウスの象牙質では, *Parp-1*^{+/+}老化マウスと比較して DSP の発現が低く, BSP の発現も認められた. 以上の結果より, *Parp-1* 遺伝子欠損によって, 老化マウスの切歯に特徴的な異形成が認められ, *Parp-1* 遺伝子がエナメル芽細胞や象牙芽細胞の機能制御に関与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.

Spontaneous development of dental dysplasia in aged *Parp-1* knockout mice

○Fujihara H^{1,2,3}, Nozaki T^{1,4}, Isumi M⁵, Shimoda S⁶, Hamada Y², Masutani M^{1,5}

¹Natl Cancer Cent Res Inst, ²Dept Oral Maxillofac Surg, Sch Dent Med, Tsurumi Univ, ³Dept Dent Hygiene, Tsurumi Jr Coll, ⁴Dept Pharmacol, Fac Dent, Osaka Dent Univ, ⁵Dept Frontier Life Sci, Grad Sch Biochem Sci, Nagasaki Univ, ⁶Dept Oral Anat, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

Poly (ADP-ribose) polymerase (Parp)-1 catalyzes polyADP-ribosylation using NAD and is involved in DNA damage response and transcription. In this study, we demonstrated that aged *Parp-1*^{-/-} mouse incisors showed frequent dental dysplasia in both an ICR/129Sv mixed background and C57BL/6 strains, while aged *Parp-1*^{+/+} mouse incisors showed only slight changes suggesting that Parp-1 deficiency itself could be involved in development of dental dysplasia at an advanced age. Computed tomography images confirmed that dental dysplasia was observed at significantly higher incidences in *Parp-1*^{-/-} mice. The relative calcification levels of *Parp-1*^{-/-} mouse incisors were higher in both enamel and dentin ($p < 0.05$). Immunohistochemical analysis revealed that 1) ameloblasts and odontoblasts in *Parp-1*^{+/+} incisors were Parp-1 positive, 2) dentin sialoprotein showed weaker positivity in dentin of *Parp-1*^{-/-} mouse incisors and 3) bone sialoprotein was also positive in dentin of *Parp-1*^{-/-} mouse incisors, suggesting ectopic osteogenic formation in dentin of *Parp-1*^{-/-} mouse incisors. These results indicate that *Parp-1* deficiency promotes odontogenic failure in incisors at an advanced age. The dentinogenesis during the development of mice was not affected by the *Parp-1* deficiency, suggesting that Parp-1 is not essential in dentinogenesis during development but is possibly involved in the regulation of continuous dentinogenesis in the incisors.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O3-05 象牙質形成におけるゴルジ体キナーゼ Fam20C の役割について

○浪花 耕平^{1,2}, 廣瀬 勝俊¹, 宇佐美 悠¹, 大家 香織¹, 佐藤 淳¹, 小守 壽文³, 豊澤 悟¹

¹阪大 院歯 口腔病理, ²阪大 院歯 口外 2, ³長大 院医歯薬 細胞生物

【目的】 Family with sequence similarity 20 C (Fam20C) は骨や歯に高発現し, S-x-E/pS モチーフを有する分泌蛋白質をリン酸化するゴルジ体キナーゼである. 象牙質には高度にリン酸化された DSPP や Dmp1 などの基質蛋白質が多く存在しているが, 象牙質形成におけるこれらのリン酸化の意義はよく分かっていない. ヒトの Fam20C 機能不全疾患 (Raine 症候群) で歯の形成不全がみられることから, Fam20C による基質蛋白質のリン酸化は歯の形成に重要であることが推察される. 本研究では, 象牙芽細胞特異的に Fam20C を過剰発現させたマウスモデル (Fam20C-Tg) を用いて, 象牙質形成における Fam20C の役割を検討した. 【方法】 I 型コラーゲンプロモーター (2.3kb) を用いて Fam20C-Tg を作製し, 血液学的解析, 形態組織学的解析, 遺伝子発現解析を行った. 【結果と考察】 Fam20C-Tg の外観や血清 P・Ca 濃度は, 野生型マウス (WT) と比較して著変は認めなかった. Fam20C-Tg (4 週齢) の臼歯では, *Fam20C* mRNA は約 15 倍高く発現し, Fam20C は象牙芽細胞のゴルジ領域に過剰蓄積していた. μ CT 解析では, Fam20C-Tg の臼歯の象牙質量は減少しており, 特に歯根でその差が顕著であった. 組織切片による形態学的解析でも Fam20C-Tg で歯根象牙質量は減少しており, 象牙前質幅は増加していた. また, 象牙芽細胞数は有意に減少していた. 免疫組織学的解析では, 象牙質のリン酸化セリンの免疫反応が増強しており, 象牙質基質蛋白質のリン酸化が亢進していることが示唆された. 遺伝子発現解析では, *Coll*, *DSPP*, *Dmp1* mRNA の発現に有意差はみられなかった. 以上, Fam20C は象牙質の基質蛋白質のリン酸化および象牙質形成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.

The role of Fam20C on the tooth dentin formation

○Naniwa K^{1,2}, Hirose K¹, Usami Y¹, Oya K¹, Sato S¹, Komori T³, Toyosawa S¹

¹Osaka Univ Grad Sch Dent Dept Oral Pathol, ²Osaka Univ Grad Sch Dent Dept Oral Surg2, ³Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci Dept Cell Biol

[Background] Fam20C is Golgi-localized protein kinase, which phosphorylates secretory proteins with S-X-E/pS motifs. Inactivation of Fam20C in human and mice leads to severe dental dysplasia. Considering high-level expression of Fam20C and many kinds of phosphorylated protein in the dentin, these findings suggest that Fam20C phosphorylation is critical for dentin formation. However, the role of Fam20C on the dentin is still unclear. In this study, we investigated the role of Fam20C on the dentin formation using odontoblast-specific Fam20C overexpressing mice (Fam20C-Tg). [Results and Discussion] Micro-CT images showed that, dentin formation in the first molar of Fam20C-Tg were impaired, especially root dentin, compare to that of WT. Histological analysis also revealed that the root dentin volume in Fam20C-Tg was significantly decreased compared to that in WT. Moreover, Fam20C-Tg showed widened predentin and decreased number of odontoblast in the root dentin. However, there was no significant difference in the mRNA expression of odontoblast differentiation markers between Fam20C-Tg and WT tooth. The immunostaining intensity of phosphoserine in the tooth of Fam20C-Tg was stronger than that of WT, suggesting that the odontoblast-produced proteins in Fam20C-Tg were highly phosphorylated. In summary, these findings suggested that Fam20C is associated with dentin formation by phosphorylating odontoblast-produced proteins.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

03-06 骨粗鬆症モデルマウスにおける間葉系幹細胞に由来する細胞外小胞の影響

○村田 早羅^{1,2}, 園田聡一郎¹, 上原 範久¹, 久本由香里¹, 高橋 一郎², 久木田敏夫¹,
山座 孝義¹

¹九大 院歯 分子口腔解剖, ²九大 院歯 矯正

【目的】現在、様々な疾患に対する間葉系幹細胞 (MSC) を応用した再生医療が期待されている。骨形成不全症や骨粗鬆症に対する MSC 移植治療による臨床的有効性が報告されている。一方、ドナー細胞の骨髄内の定着率が非常に低いことも報告され、ドナー細胞による直接的な骨再生のほか、様々な分泌・放出因子によるレシピエント細胞の賦活化による骨再生への効果も考えられている。本研究では、骨粗鬆症モデルマウスにおける MSC 移植において、MSC が放出する細胞外小胞 (EV) の関与について検討した。【方法】雌性マウスの卵巣を摘出し、骨粗鬆症モデルマウスを作製した。卵巣摘出後、2 日後に MSC の培養上清より精製した MSC-EV を経静脈的に投与した。また予め RNase で前処理した MSC-EV (RNase-MSC-EV) も経静脈的に投与した。対照群として、sham 手術群および EV/RNase-EV 無投与群とした。EV/RNase-EV 投与後 4 週にて、マイクロ CT による腰椎の解析ならびに長骨より単離したレシピエント骨髄 MSC を用いて、骨形成能の解析を行った。【結果】MSC-EV 投与により、EV/RNase-EV 無投与群で低下していた第 3 腰椎での骨密度ならびに骨量に有意な改善効果が認められた。また無投与群レシピエント骨髄 MSC と比較して、MSC-EV 投与群レシピエント骨髄 MSC の *in vitro* 骨形成能が有意に促進していた。一方、RNase-EV 投与群では、第 3 腰椎での骨量・骨密度やレシピエント骨髄 MSC の *in vitro* 骨形成能には効果が認められなかった。【考察】以上の研究結果より、骨粗鬆症モデルマウスにおける MSC 移植において、MSC が放出する EV に含まれる miRNA が、レシピエント骨髄 MSC の骨形成能を賦活化し、骨再生を誘導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。

Effects of extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells in osteoporosis model mice

○Murata S^{1,2}, Sonoda S¹, Uehara N¹, Kyumoto Y¹, Takahashi I², Kukita T¹, Yamaza T¹

¹Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent

²Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent

[Purpose] The clinical effectiveness of mesenchymal stem cell (MSC) transplantation to osteogenesis imperfecta and osteoporosis has been reported. While only a few donor cells are capable of colonizing in bone marrow, various secreted and released factors from transplanted MSCs have been considered to activate the recipient cells. In this study, we investigated a therapeutic efficacy of extracellular vesicles (EV) released from MSCs (MSC-EV) in osteoporosis model mice. [Methods] MSC-EV were purified from conditioned medium of MSC cultures. Some MSC-EV were pretreated with RNase (referred to RNase-MSC-EV). EV and RNase-EV were intravenously injected into ovary-ectomized (OVX) mice. Four weeks after the injection, we analyzed *in vivo* bone regeneration ability by using micro-CT analysis and *in vitro* bone regeneration capacity of recipient bone marrow MSCs (BMMSCs). [Result] MSC-EV administration showed a significant improvement in bone density and bone mass in the lumbar spine. Moreover, the recipient BMMSCs from MSC-EV-treated mice significantly accelerated bone formation capacity. While RNase-EV administration group did not show any improvement for the bone regeneration *in vivo* and *in vitro*. [Discussion] These findings suggest that miRNA containing MSC-EV might be a critical factor to treat bone reduction in osteoporosis model mice.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O3-07 胆道閉鎖症患児に対する自家乳歯幹細胞移植治療を目指した基礎研究

○園田聡一郎, 村田 早羅, 久本由香里, 上原 範久, 久木田敏夫, 山座 孝義

九大 院歯 分子口腔解剖

【目的】胆道閉鎖症(BA)は、肝外胆管閉鎖を原因とする胆汁うっ滞性疾患であり、新生児期に発症する。胆管の閉鎖を解除する手術が行われるが、奏功しない場合は肝線維症が進行し、肝不全へ陥るため、肝移植が必要となる。しかし、肝臓ドナーは限られており、移植待機中の肝線維症の進行を抑制する手段が必要とされる。我々は、肝線維症モデルマウスに乳歯幹細胞(SHED)を経脾的に投与し、生体内におけるSHEDの肝細胞様細胞分化を伴った肝機能の改善をもたらすこと、さらに抗炎症作用による線維化の消退をもたらすことを報告し、SHEDを用いた肝移植に代わる新たな治療法の開発を行った。本研究では、免疫学的安全性を踏まえ、BA患児由来のSHEDを用いた自家細胞移植の可能性について検討した。**【方法】**BA患児由来のSHEDを単離した(BA-SHED)。四塩化炭素誘導性肝線維症モデルマウスにBA-SHEDならびに健常SHEDを経脾投与した。血中AST、ALT値の生化学的解析およびヘマトキシリン・エオジン染色による組織学的解析を行い、治療効果を比較した。**【結果】**BA-SHEDは、レシピエント肝内にて肝細胞様細胞への分化を示し、線維化ならびに肝機能の改善を示した。しかし、血中総ビリルビン値の改善は認められなかった。さらに組織学的解析にて、BA-SHED移植群ではヘリング管および小葉間胆管の再生が認められず、胆汁排泄能が改善されていなかった。**【考察】**BA-SHEDによる自家移植を可能とするためには、肝内胆管系の再生不全の機序解明が必要と考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Basic research of autologous transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth to biliary atresia

○Sonoda S, Murata S, Kyumoto Y, Uehara N, Kukita T, Yamaza T

Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Purpose: Biliary atresia (BA) is a cholestatic disease caused by bile duct obstruction in newborn infants. Because hepatic fibrosis and cirrhosis slowly progress in many BA patients, and the patients need a liver organ transplantation. Therefore, it is very required to suppress a fibrosis in the pre-transplantation period. Previously, we reported that transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) ameliorated hepatic functions by the hepatic differentiation of SHED, and suppressed hepatic fibrosis via anti-inflammatory function of SHED in a liver fibrosis mouse model. In this study, based on safety of autologous transplantation, we evaluated the effectiveness of BA patient derived-SHED (BA-SHED) transplantation.

Methods: We isolated BA-SHED. We transplanted BA-SHED and healthy-SHED via intrasplenic injection to a CCl₄-induced hepatic fibrosis mouse model, then compared the therapeutic effects between BA-SHED and healthy-SHED.

Results: BA-SHED exhibited a differentiation capacity into hepatocyte-like cells in recipient liver, reduced fibrosis area, and ameliorated the recipient hepatic function. However, serum total bilirubin remained the high level, and intrahepatic bile duct structures didn't seem to be regenerated histologically.

Conclusion: Therefore, to enable autologous transplantation, it is necessary to elucidate a mechanism of defected intrahepatic bile duct regenerative capacity of BA-SHED.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O3-08 頭蓋顎顔面の形態形成におけるヘパラン硫酸の役割

○中西祐一郎¹, 犬伏 俊博¹, 松本 嘉寛², 山口 祐³, 山城 隆¹

¹阪大 院歯 矯正, ²九大 院医 整形外科, ³サンフォード バーナム プレビス メディカル ディスカバリー インスティテュート ジェネティック ディジーズ プログラム

【目的】ヘパラン硫酸の合成・代謝にかかわる遺伝子の変異を原因とする先天異常症候群では、口蓋裂をはじめとした頭蓋顎顔面形態異常を伴っていることが明らかとなっているが、その詳細については明らかになっていない。そこで本研究では、ヘパラン硫酸による頭蓋顎顔面や歯の形態形成の制御機構を明らかにすることを目的とした。【試料および方法】本研究では、野生型マウス(C57BL/6)ならびにヘパラン硫酸合成酵素(Ext1)の頭蓋顎顔面特異的(Wnt1-Cre)ノックアウトマウス(以下、CKO)胎児を用いた。摘出した胎児は実体顕微鏡下での観察に加え、骨格標本の作製またはマイクロCT撮影を行い、詳細な形態学的解析を行った。さらに、組織切片を作製し、組織学的解析を行った。遺伝子発現分布の解析は *in situ hybridization* 法にて行った。【結果および考察】胎生 9.5 日では、CKO において大きな形態異常は認められないが、胎生 10.5 日以降になると、CKO では顔面突起の伸長や癒合が著しく抑制されていることが明らかになった。CKO は全て出生直後に死亡し、正中裂、口蓋裂を伴う形態異常を示した。骨格標本ならびに μ CT での解析では、顔面正中部は大きく骨が欠損しており、また、上顎骨ならびに下顎骨の著しい短小化が認められた。組織学的解析では、切歯や臼歯歯胚の矮小化と形態異常を認めた。さらに、神経堤細胞やそれに由来する組織においてヘパラン硫酸プロテオグリカンである Syndecan1 や Glypican1 の発現が認められた。これらの所見から、神経堤細胞の遊走をヘパラン硫酸が制御していることが示された。【結論】本研究結果よりヘパラン硫酸は神経堤細胞の遊走を制御することで、頭蓋顎顔面や歯の形態形成を制御していることが明らかになった。今後、本研究成果を基盤にした新しい分子診断や予防的治療法の開発が期待される。【利益相反】利益相反状態にはありません。

The role of heparan sulfate on the craniofacial morphogenesis

○Nakanishi Y¹, Inubushi T¹, Matsumoto Y², Yamaguchi Y³, Yamashiro T¹

¹Osaka Univ Grad Sch Dent Dept Orthodont, ²Dept Orthopaedic Surg Kyushu Univ Sch Med

³Sanford Burnham Prebys MEDICAL DISCOVERY INSTITUTE Genetic Disease Program

It has been shown that mutations in the genes, which are involved in the biosynthesis of heparan sulfate (HS), cause the craniofacial malformation, including cleft palate. However, the detailing mechanisms on how HS regulates craniofacial formation are unknown. In the present study, we aimed to clarify the roles of HS on neural crest cells function during craniofacial and tooth development. We generated Ext1, an HS synthase, craniofacial specific conditional knockout (Wnt1-Cre) mice (Ext1-CKO). The morphological analysis of skeletal preparation and micro CT images were performed. In addition, histological evaluation was performed in the paraffin and frozen sections. The gene expression profiles were examined by *in situ hybridization*. The Ext1-CKO mice showed severer craniofacial abnormalities with midline defects and cleft palate, with the midline cranial bone defects, short mandible, and small maxilla. Histological analysis showed reduced size and malformation of tooth germ. The expression of the Syndecan1 and Glypican1, HS proteoglycans, were found in the tissue derived from neural crest cells at embryonic day 9.5. The present results indicated that HS plays an essential role on the craniofacial morphogenesis by regulating neural crest cells migration. The results might contribute to improve diagnosis and develop novel treatment strategies for craniofacial anomalies.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

O3-09 生体材料埋入時に出現する老化細胞が骨再生に与える影響

○本田 義知¹, 黄 安祺², 橋本 正則³, 岩崎 剣吾¹, 馬場 俊輔²

¹大歯大 中歯研, ²大歯大 口腔インプラント, ³大歯大 医療保健 口腔保健

炎症等で引き起こされるストレスは老化細胞を出現させる。近年, このようなストレス誘導性老化細胞が周囲組織に機能不全を起こすこと, 同細胞の除去が動脈硬化等の疾患改善に有効であることが相次いで報告されている。一方, 生体材料埋入時に引き起こされる異物反応や術後感染は埋入組織に炎症を惹起しうるが, 同現象による老化細胞の出現挙動, ストレス誘導性老化細胞と骨再生の関係の解明は黎明期にある。このような背景を踏まえ演者等は, 「生体材料埋入時に出現する老化細胞の制御は, 骨再生を増強しうる」との仮説を立てた。本研究では, 将来的な老化細胞制御による骨再生増強法の開発を視野に, ラット頭蓋臨界骨欠損モデルを用いて, 老化細胞出現挙動と同制御による骨再生増強を試みたので報告する。埋入材料には, ブタ皮膚由来 Type A ゼラチンを 150 度 24 時間真空熱処理したスポンジ (vhGS) と, 同材料へ緑茶由来カテキン (エピガロカテキンガレート: EGCG) を化学的に結合した材料を用いた。材料評価には, 走査型電子顕微鏡等を用いた。8 週齢の雄性 SD 系ラットの頭蓋冠に直径 9 mm の臨界骨欠損を形成し, 上記材料を 1, 4 週間埋入して老化細胞の出現挙動と骨形成能を評価した。老化細胞の出現挙動は, 酸性 β -ガラクトシダーゼ (SA- β -Gal), p16 および p21 蛋白の免疫組織学的評価から見積もった。骨形成能評価には μ CT を用いた。更に, 老化細胞の選択的除去が可能なセノリティック薬 (ケルセチン+ダサニチブ: D+Q) を経口投与し, 老化細胞の骨再生への調査を深化した。vhGS 群では SA- β -Gal, p16, p21 染色強度の顕著な増強が認められた。EGCG 結合ゼラチン埋入群, D+Q 投与群ではこれらのマーカーの染色強度が低下し, 骨形成が増強した。以上の結果は, ストレス誘導性老化細胞は骨再生を抑制しており, 同制御が骨再生促進に繋がる可能性を示唆している。現在, 細胞老化による骨再生抑制機序を慎重に調査中である。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effect of senescence cells induced by material implantation for bone regeneration

○Honda Y¹, Huang A², Hashimoto M³, Iwasaki K¹, Baba S²

¹Inst Dent Res, Osaka Dent Univ, ²Dept Oral Implant, Osaka Dent Univ

³Fac Health Sci, Dept Oral Health Sci, Osaka Dent Univ

Stress-induced cellular senescence is known to induce the detrimental effect for the wound healing and to cause the chronic inflammation via SASP. Nevertheless, there is sparse information of how foreign bony reaction induced by the material implantation yield the senescence cells or how these cells affect bone regeneration. Based on these backgrounds, we hypothesized that the stress-induced senescence cells hamper the bone regeneration process. The aim of this study was to investigate the advent of senescence cells after the materials implantation and the effect of those cells for bone regeneration in critical sized bone defect of rat calvaria. Vacuum heated gelatin sponge was used as the model sample. We used immunohistochemical staining using p16 and p21 antibody to verify the advent of senescence cells. As a result, the implantation of vacuum heated gelatin sponge promoted the advent of senescence cells, while the decrease of these cells using green tea catechin and senolytic agents enhanced the bone regeneration. The results indicated that the senescence cells induced by the foreign body reaction is likely to attenuate the bone regeneration process. The control of the cells might be a promising strategy to reinforce the bone regeneration therapy.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

03-10 機械学習による残存歯認識モデル開発と学習過程の可視化による解析

○清野 雄多, 大島 勇人

新潟大 院医歯 口腔生命科学

【目的】 歯科における人工知能関連技術は、エックス線写真を用いた歯種鑑別や齲蝕検出が知られている。我々は、災害時の個人識別や初診時の治療難易度評価を目的とし、口腔内写真を用いた残存歯認識モデルを開発してきたが、その認識過程は不明であった。そこで今回、学習内容の可視化技術を用い、本モデルの解析を行った。

【方法】 ランダムな欠損をもつ歯列弓をソフトウェア上で12万枚生成し、これを教師データとした。歯列は粘膜（歯肉、口蓋、舌）を含むものと含まないものがあるが両者を合わせて教師データとした。モデルの構築では、機械学習ライブラリであるTensorflowとKerasを用いて畳み込みニューラルネットワークをつくり、精度99%以上で残存歯を識別するモデルを得た。このモデルに対し、CAM (class activation map) を用いて注目領域をヒートマップで示した。

【結果と考察】 ヒートマップを作成した4つの畳み込み層を浅い順に層1-4と呼ぶ。層1では残存歯と注目領域が重なっており、特に残存歯の頬側咬頭あるいは頬側歯肉が注目されていた。上顎では小臼歯から大臼歯部の口蓋粘膜が注目される画像が4割程度存在し、下顎では全ての画像で舌尖部が注目されていた。層2-3では、背景に注目領域が移り、残存歯の頬側にある背景（無地の黒色）が注目された。層4は最も変化に富み、画像の四隅や上半分あるいは下半分、さらに左右対称の注目領域を示すヒートマップが得られた。以上より、本モデルでは上下の区別は口蓋と舌に起因することが示唆され、浅い層では頬側の歯冠形態、深い層では歯以外の余白に注目していることが分かった。本モデルはそれぞれの歯種が持つ固有の歯冠形態よりもむしろ、欠損による空白を認識することで歯列全体を捉え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。

Development of residual tooth recognition model by machine learning and its analysis with visualization of learning process

○Seino Y, Ohshima H

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

[Purpose] We have developed a tooth recognition mode for the purpose of personal identification during disasters and evaluation of difficulty in treatment. We analyzed this model using visualization technology to clarify the recognition process.

[Method] We constructed a model with Tensorflow and Keras, which could identify remaining teeth with an accuracy of over 99%. CAM (class activation map) is applied to show the region of interest (ROI).

[Results and Discussion] The four layers where the heat map was created were named "layers 1...4" in order of shallowness. In layer 1, the ROI overlapped with teeth. In the mandible, the apex of the tongue was focused in all the images. In layer 2-3, the ROI moved to the background (solid black) on the buccal side of the teeth. Layer 4 showed various ROI that emphasize four corners, upper half or lower half of the image. Thus, the findings suggest that the distinction between maxilla and mandible is determined by the palate and the tongue in this model. In addition, ROI is focused on the crown shape in the shallow layer and the margin other than the tooth in the deep layer.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

03-11 加齢およびエストロゲンシグナル欠乏は唾液腺における老化関連 T 細胞集積を促進する

○黒澤 実愛, 古川 匡恵, 松下 健二, 四釜 洋介
長寿研 口腔疾患

【目的】口腔乾燥症は加齢とともに患者数が増加し、特に中高年の女性に多い。本研究は、老齢マウスを用い、免疫老化や唾液腺実質細胞の細胞老化、および性ホルモンの「ゆらぎ」が唾液腺機能におよぼす影響を解析する事を目的とした。

【方法】C57BL/6N の老齢マウス(約 22ヶ月齢)と初老マウス(12ヶ月齢)、若齢マウス(約 7 週齢)を用いて解析した。免疫細胞は FACS で解析し、唾液腺に関しては DNA microarray および Real-time PCR で解析した。唾液腺上皮細胞の単離には上皮細胞のマーカーである CD326 の抗体を結合した磁気ビーズにて単離した。

【結果】若齢マウスと比較して老齢マウスの唾液量が減少した。加齢とともに二次リンパ組織では老化関連 T (SA-T)細胞が増加するとともに、老齢マウスの唾液腺において SA-T 細胞が集積し、特に老齢メスマウスで顕著であった。DNA microarray の結果から、老齢マウス由来唾液腺上皮細胞ではケモカインである CXCL13 発現が上昇しており、特にメスマウスでその上昇が顕著であった。性ホルモンの影響を検討するために唾液腺上皮初代培養細胞をエストロゲン受容体拮抗薬で刺激すると、CXCL13 発現が誘導された。この結果から、唾液腺上皮細胞の老化およびエストロゲンシグナルの欠乏によって CXCL13 発現が誘導される可能性が示唆された。

【結論】メスマウスでは、加齢によりエストロゲンレベルが低下することから、エストロゲンシグナルの低下または欠乏、および唾液腺上皮細胞の細胞老化により CXCL13 発現が上昇し、その結果唾液腺に SA-T 細胞が集積することで、組織破壊が誘導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。

Involvement of aging and estrogen signaling in the accumulation of senescence-associated T-lymphocytes in the salivary glands

○Kurosawa M, Furukawa M, Matsushita K, Shikama Y
Dept Oral Dis Res, NCGG

Objectives: The mechanisms underlying the involvement of aging and/or gender in the function of the salivary glands (SG) are not well known. The age-dependent development of senescence-associated T-lymphocytes (SA-Ts) has been reported in secondary lymphoid tissue. In this study, we investigated whether SA-Ts accumulate in the (SG) with aging and the mechanism underlying their accumulation.

Methods: Young or aged C57BL/6N mice were used. The mRNA expression levels were analyzed by real-time PCR and DNA microarray. The cell population and number in tissues were examined by flow cytometry. Epithelial cells in the SG were magnetically isolated by CD326 microbeads.

Results & Conclusion: Although the population and number of SA-Ts and B-lymphocytes were greater in the SG of both male and female aged mice than in the corresponding young mice, the population and number were significantly greater in aged female mice than in aged male mice. B-lymphocytes play an essential role in accumulating SA-Ts. The mRNA expression level of CXCL13 was found to be higher in the SG epithelial cells of aged female mice than in those of aged male mice. Estrogen deficiency may increase CXCL13 expression in SG epithelial cells and SA-Ts accumulation, resulting in tissue destruction in the SG.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-01 携帯型 X 線発生装置使用時の水晶体・手指被曝に関する研究

○岩脇 淳志¹, 大高 祐聖², 浅見 瑠璃¹, 石井 猛¹, 坂 英樹^{1,3}

¹明海大 歯 病態診断治療 歯科法医

²明海大 歯 病態診断治療 放射線

³明海大 歯 歯科法医学セ

【目的】近年、東日本大震災や熊本大地震など大規模災害が多く発生している。大規模災害時では多数の犠牲者が予想され、個人識別の必要性が認識されている。歯科的個人識別において X 線写真は大きな効果を発揮しているが、災害時では携帯型 X 線発生装置が多く使用される。しかし、携帯型 X 線発生装置使用時の術者被曝に関して重要臓器の被曝線量や手指被曝に関する報告は少ない。そこで今回、携帯型 X 線発生装置の水晶体被曝と手指被曝線量を測定し撮影限界枚数、体数について考察を行った。【方法】現在現場で多く使用される携帯型 X 線発生装置 4 機種を実験材料として使用した。被写体として、IEC 規格の CT 線量測定用頭部ファントム (PMMA 製円柱直径 16 cm×高さ 15 cm) を用いた。床と垂直な面に関し X 線照射方向を 0°とし、水晶体の被曝に関与すると考えられた 120°~150°を関心領域とした。水晶体被曝の測定には 350 cm³の電離箱 (Pitman 社) を用いた。手指被曝線量は装置スイッチ相当部に線量計検出部を設定し 1 秒照射で測定を行った。測定には MyDosemini (日立アロカメディカル社) を用いた。【結果と考察】水晶体被曝はシールドを使用した場合、非装着時と比較して線量が約 1/3~1/4 に減少した。手指被曝線量はシールドの使用で最大、検出限界以下に減少した。水晶体被曝は 150mSv/年、手指被曝線量は 500mSv/年が線量限度とされている。この線量限度と口内法 10 枚法の各部位の診断参考レベルをもとに撮影限界体数を算出した。撮影限度体数もシールドを使用することで 3~4 倍撮影が可能となる。これらのことから、X 線撮影時にはシールドの使用が推奨された。また、水晶体被曝と手指被曝の線量限度は職業被曝と比較し大きいのが、確率的影響を考慮するとゴーグルや防護手袋などの防護に努める必要性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

The study of lents and finger exposure

○Iwawaki A¹, Ootaka U², Asami R¹, Ishii T¹, Saka H^{1,3}

¹Div Forensic Odontol, Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent

²Div Dent Radiol, Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent

³Forensic Odontol Cent, Meikai Univ Sch Dent

This study was aimed at investigating exposure dose of lents and finger. The output radiations generated from the portable intraoral X-ray unit, were measured using ThinX RAD (RaySafe). The air dose, generated from an IEC CT head phantom (a PMMA cylinder with diameter of 16 cm and height of 15 cm) and the X-ray unit, were measured using Pitman 37D and ionization chamber of 350 cm³(Pitman). Using a shield, lents exposure dose decreased about 1/3- 1/4 in comparison with non-wearing. The finger radiation exposure dose decreased in maximum, less than detection limit by the use of the shield. It should be used for all potable intraoral X-ray units to keep the limits of occupational and public doses, and using a shield and eye protection glass.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-02 胆道閉鎖症患児に対する自家乳歯幹細胞移植治療を目指した基礎研究

○園田聡一郎, 村田 早羅, 久本由香里, 上原 範久, 久木田敏夫, 山座 孝義
九大 院歯 分子口腔解剖

【目的】胆道閉鎖症 (BA) は, 肝外胆管閉鎖を原因とする胆汁うっ滞性疾患であり, 新生児期に発症する. 胆管の閉鎖を解除する手術が行われるが, 奏功しない場合は肝線維症が進行し, 肝不全へ陥るため, 肝移植が必要となる. しかし, 肝臓ドナーは限られており, 移植待機中の肝線維症の進行を抑制する手段が必要とされる. 我々は, 肝線維症モデルマウスに乳歯幹細胞 (SHED) を経脾的に投与し, 生体内における SHED の肝細胞様細胞分化を伴った肝機能の改善をもたらすこと, さらに抗炎症作用による線維化の消退をもたらすことを報告し, SHED を用いた肝移植に代わる新たな治療法の開発を行った. 本研究では, 免疫学的安全性を踏まえ, BA 患児由来の SHED を用いた自家細胞移植の可能性について検討した. 【方法】BA 患児由来の SHED を単離した (BA-SHED). 四塩化炭素誘導性肝線維症モデルマウスに BA-SHED ならびに健常 SHED を経脾投与した. 血中 AST, ALT 値の生化学的解析およびヘマトキシリン・エオジン染色による組織学的解析を行い, 治療効果を比較した. 【結果】BA-SHED は, レシピエント肝内にて肝細胞様細胞への分化を示し, 線維化ならびに肝機能の改善を示した. しかし, 血中総ビリルビン値の改善は認められなかった. さらに組織学的解析にて, BA-SHED 移植群ではヘリング管および小葉間胆管の再生が認められず, 胆汁排泄能が改善されていなかった. 【考察】BA-SHED による自家移植を可能とするためには, 肝内胆管系の再生不全の機序解明が必要と考えられる.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

Basic research of autologous transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth to biliary atresia

○Sonoda S, Murata S, Kyumoto Y, Uehara N, Kukita T, Yamaza T
Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Purpose: Biliary atresia (BA) is a cholestatic disease caused by bile duct obstruction in newborn infants. Because hepatic fibrosis and cirrhosis slowly progress in many BA patients, and the patients need a liver organ transplantation. Therefore, it is very required to suppress a fibrosis in the pre-transplantation period. Previously, we reported that transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) ameliorated hepatic functions by the hepatic differentiation of SHED, and suppressed hepatic fibrosis via anti-inflammatory function of SHED in a liver fibrosis mouse model. In this study, based on safety of autologous transplantation, we evaluated the effectiveness of BA patient derived-SHED (BA-SHED) transplantation.

Methods: We isolated BA-SHED. We transplanted BA-SHED and healthy-SHED via intrasplenic injection to a CCl₄-induced hepatic fibrosis mouse model, then compared the therapeutic effects between BA-SHED and healthy-SHED.

Results: BA-SHED exhibited a differentiation capacity into hepatocyte-like cells in recipient liver, reduced fibrosis area, and ameliorated the recipient hepatic function. However, serum total bilirubin remained the high level, and intrahepatic bile duct structures didn't seem to be regenerated histologically.

Conclusion: Therefore, to enable autologous transplantation, it is necessary to elucidate a mechanism of defected intrahepatic bile duct regenerative capacity of BA-SHED.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-03 胎生期マウスの二次口蓋におけるライブ観察法の確立

○長坂 新¹, 崎山 浩司¹, 坂東 康彦¹, 小笠原悠大^{1,2}, 小野澤 豪^{1,3}, 天野 修¹

¹明海大 歯 解剖

²明海大 歯 口腔顔面外科 2

³明海大 歯 口腔顔面外科 1

二次口蓋は、舌をはさむように位置する左右の外側口蓋突起が舌の沈下に伴って水平方向に挙上し、やがて正中部で接着・癒合することによってその形ができあがる。この発生過程のどこかで異常が生じると口蓋裂が発症することになる。マウスを用いた解析によって口蓋裂発症に対する生化学的な理解が進んでいる一方、二次口蓋の正常な発生過程でその組織を構成する細胞がどのような形態変化や動態を示すのかは不明な点が多い。そこで本研究では、口蓋発生過程の中でも特に大規模な組織の変形を伴う「外側口蓋突起の挙上」という現象に注目し、挙上時における細胞の形態・動態を明らかにするため、組織培養を組み合わせたライブイメージング法の確立を目的とした。挙上が起こる胎生 13 日目のマウス胎仔から外側口蓋突起の冠状面スライスを作製し、コラーゲンゲルを用いてディッシュ上に保持した。個々の細胞の観察のために脂溶性色素である FM4-64 を用いて細胞膜を可視化し、共焦点顕微鏡によるライブ観察を行った。研究の性質上、生きている状態で外側口蓋突起に存在する細胞を観察することが理想である。そこで今回は、適切な観察条件を調べるためにディッシュヒーターによる加温を 33℃、37℃、40℃の 3 通り、CO₂ ガス供給濃度を 2%、5%、10% の 3 通りでそれぞれ培養を行い、細胞の形や動きを観察した。また、ライブ観察による細胞へのダメージを調べるために、免疫組織化学法によって分裂細胞数の変化や死細胞の割合などを計測した。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Establishment of live imaging method of palatal shelves during secondary palate development

○Nagasaka A¹, Sakiyama K¹, Bando Y¹, Ogasawara Y^{1,2}, Onozawa G^{1,3}, Amano O¹

¹Div Anat, Meikai Univ Sch Dent

²Div Second Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch Dent

³Div First Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch Dent

The secondary palate first appears as a bilateral outgrowth of the palatal shelves on either side of the tongue. Subsequently, the palatal shelves elongate, elevate themselves into a horizontal position above the tongue, grow toward each other, and fuse at the midline to complete the formation. Perturbation in any of these steps can lead to cleft palate. In embryonic development, tissue morphogenesis requires the coordination of cell behaviors such as proliferation, differentiation and migration. During secondary palate development, while mouse genetic approaches have been widely used to study, relevance of cell behaviors remains unknown. In this study, to directly observe cell behavior during secondary palate development, especially focusing on the palatal shelf elevation, we established confocal live imaging method in explant culture. We used E13 mouse embryo which occurs the palatal shelf elevation. Cross-sectional cultures of palatal shelves were microsurgically processed and embedded in a dish with collagen gel. For the observation, cells were visualized by staining with FM4-64. In this poster, we examined the suitable conditions of live imaging such as dish temperature and CO₂ concentration. In addition, we evaluated the cell damage due to the live imaging, using immunohistochemical method.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-04 骨格筋再生過程における M2 マクロファージおよび Tcf4 陽性線維芽細胞の局在に関する検索

○小川 雄大¹, 是澤 智久¹, 橋本 圭史¹, 橋本 千明¹, 山本悠太郎¹, 廣内 英智¹,
山本 将仁¹, 松永 智¹, 佐藤 正樹², 阿部 伸一¹

¹東歯大 解剖, ²東歯大 生物

骨格筋再生において、筋線維周囲結合組織のマクロファージや線維芽細胞が再生筋線維の成熟に必要な不可欠である。マクロファージには M1 型と M2 型の 2 種が存在し、M2 マクロファージは組織修復に関わり再生筋線維を成熟させることが近年報告された。そして線維芽細胞の核内転写因子である Tcf4 の発現が、筋線維の再生を完了させるために必要であることも明らかとなってきた。しかしながら、骨格筋再生過程における M2 マクロファージと Tcf4 の局在について不明な点が残されており、免疫組織化学的検索により両因子の局在を調べた。成獣の C57BL/6J マウスの咬筋を観察対象とした。凍傷を与え、骨格筋の再生過程を経時的に調べた。通法に従い凍結切片を作製し、形態学的染色ならびに免疫組織化学的染色を施した。指標として M1, M2 マクロファージの表面タンパク CD86, CD206, 線維芽細胞核内転写因子の Tcf4, 幼若な筋線維の eMHC, 筋線維基底膜の Laminin, エンドサイトーシスに関連する Clathrin とした。損傷後 5 日で CD206 および Tcf4 の発現が認められ、損傷後 7 日では再生筋線維の断面積は大きく成熟し、CD206 と Tcf4 の発現は筋線維と重なって発現するものも認められた。再生筋線維と CD206, Tcf4 との重なりの詳細を観察したところ、再生筋線維の内部に CD206 および Tcf4 が侵入していた。Tcf4 の発現は中心核の中にも認められた。筋線維内に侵入する前の CD206 と Tcf4 の周囲には Clathrin の発現が認められたが、侵入後では認められなかった。骨格筋再生において、再生筋線維の内部に M2 マクロファージと線維芽細胞が侵入することにより再生筋線維の成熟に必要な因子を直接作用させていることが示唆された。再生筋線維に侵入する際に M2 マクロファージと線維芽細胞が Clathrin を発現することから、再生筋線維のなかでも特異的に筋線維基底膜を選択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。

Examining the localization of M2 macrophages and Tcf4-positive fibroblasts during the process of skeletal muscle regeneration

○Ogawa Y¹, Koresawa T¹, Hashimoto K¹, Hashimoto C¹, Yamamoto Y¹, Hirouchi H¹,
Yamamoto M¹, Matsunaga S¹, Satou M², Abe S¹

¹Dept Anat, Tokyo Dent Coll, ²Lab Biol, Tokyo Dent Coll

In skeletal muscle regeneration, macrophages and fibroblasts in connective tissues are needed to induce maturation of regenerating muscle fibers. Macrophages are classified into the M1-type and M2-type, and M2 macrophages are known to be involved in tissue repair and induce maturation of regenerating muscle fibers. Studies also demonstrated that expression of the nuclear transcription factor Tcf4 in fibroblasts are necessary to regenerate muscle fibers. However, little is known about the localization of M2 macrophages and Tcf4 during skeletal muscle regeneration. We examined the localization of these factors by immunohistochemistry. Masseter muscle tissues of adult C57BL/6J mice were examined. We induced frostbite and examined the process of skeletal muscle regeneration. CD206 and Tcf4 were co-expressed and infiltrating the regenerating muscle fibers. Furthermore, Tcf4 was also expressed in the nucleus. Clathrin was expressed around CD206-positive and Tcf4-positive cells prior to but not after the infiltration. Our findings suggest that in the process of skeletal muscle regeneration, M2 macrophages and fibroblasts infiltrate the regenerating muscle fibers and act directly to provide factors required for the maturation process. Furthermore, since these cells expressed Clathrin before the infiltration, it is likely that they specifically target the basement membrane of the regenerating muscle fibers.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-05 骨粗鬆症モデルマウスにおける間葉系幹細胞に由来する細胞外小胞の影響

○村田 早羅^{1,2}, 園田聡一郎¹, 上原 範久¹, 久本由香里¹, 高橋 一郎², 久木田敏夫¹,
山座 孝義¹

¹九大 院歯 分子口腔解剖, ²九大 院歯 矯正

【目的】現在、様々な疾患に対する間葉系幹細胞 (MSC) を応用した再生医療が期待されている。骨形成不全症や骨粗鬆症に対する MSC 移植治療による臨床的有効性が報告されている。一方、ドナー細胞の骨髄内の定着率が非常に低いことも報告され、ドナー細胞による直接的な骨再生のほか、様々な分泌・放出因子によるレシピエント細胞の賦活化による骨再生への効果も考えられている。本研究では、骨粗鬆症モデルマウスにおける MSC 移植において、MSC が放出する細胞外小胞 (EV) の関与について検討した。【方法】雌性マウスの卵巣を摘出し、骨粗鬆症モデルマウスを作製した。卵巣摘出後、2日後に MSC の培養上清より精製した MSC-EV を経静脈的に投与した。また予め RNase で前処理した MSC-EV (RNase-MSC-EV) も経静脈的に投与した。対照群として、sham 手術群および EV/RNase-EV 無投与群とした。EV/RNase-EV 投与後4週にて、マイクロCTによる腰椎の解析ならびに長骨より単離したレシピエント骨髄 MSC を用いて、骨形成能の解析を行った。【結果】MSC-EV 投与により、EV/RNase-EV 無投与群で低下していた第3腰椎での骨密度ならびに骨量に有意な改善効果が認められた。また無投与群レシピエント骨髄 MSC と比較して、MSC-EV 投与群レシピエント骨髄 MSC の *in vitro* 骨形成能が有意に促進していた。一方、RNase-EV 投与群では、第3腰椎での骨量・骨密度やレシピエント骨髄 MSC の *in vitro* 骨形成能には効果が認められなかった。【考察】以上の研究結果より、骨粗鬆症モデルマウスにおける MSC 移植において、MSC が放出する EV に含まれる miRNA が、レシピエント骨髄 MSC の骨形成能を賦活化し、骨再生を誘導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。

Effects of extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells in osteoporosis model mice

○Murata S^{1,2}, Sonoda S¹, Uehara N¹, Kyumoto Y¹, Takahashi I², Kukita T¹, Yamaza T¹

¹Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent

²Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent

[Purpose] The clinical effectiveness of mesenchymal stem cell (MSC) transplantation to osteogenesis imperfecta and osteoporosis has been reported. While only a few donor cells are capable of colonizing in bone marrow, various secreted and released factors from transplanted MSCs have been considered to activate the recipient cells. In this study, we investigated a therapeutic efficacy of extracellular vesicles (EV) released from MSCs (MSC-EV) in osteoporosis model mice. [Methods] MSC-EV were purified from conditioned medium of MSC cultures. Some MSC-EV were pretreated with RNase (referred to RNase-MSC-EV). EV and RNase-EV were intravenously injected into ovary-ectomized (OVX) mice. Four weeks after the injection, we analyzed *in vivo* bone regeneration ability by using micro-CT analysis and *in vitro* bone regeneration capacity of recipient bone marrow MSCs (BMMSCs). [Result] MSC-EV administration showed a significant improvement in bone density and bone mass in the lumbar spine. Moreover, the recipient BMMSCs from MSC-EV-treated mice significantly accelerated bone formation capacity. While RNase-EV administration group did not show any improvement for the bone regeneration *in vivo* and *in vitro*. [Discussion] These findings suggest that miRNA containing MSC-EV might be a critical factor to treat bone reduction in osteoporosis model mice.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-06 マイクロ CT を用いた上顎小白歯の年齢推定法の精度の比較

○浅見 瑠璃¹, 網干 博文², 岩脇 淳志¹, 石井 猛¹, 大高 祐聖³, 小高 研人⁴,
阿部 伸一⁵, 坂 英樹^{1,6}

¹明海大 歯 歯科法医, ²日大 歯 法医, ³明海大 歯 放射線, ⁴東歯大 放射線, ⁵東歯大 解剖, ⁶明海大 歯科法医学セ

歯は無機成分が主体で原型保存性が高く、死後も長期間残存し、種々の加齢変化も認められることから、身元不明死体の年齢推定の試料として用いられることが多い。さらに、歯科治療痕を含む口腔内の特徴は千差万別で、修復・補綴装置は高度損傷死体でも残存する機会が多いことから、歯科所見による個人識別は有効である。歯による年齢推定では、これまでに研磨標本、パノラマ X 線撮影装置、口内法 X 線撮影装置、マイクロ X 線 CT、歯科用 CBCT を用いた方法などが報告されている。そのなかで研磨標本を用いる方法は、試料の損壊、変形を伴う。一方、試料の非破壊的な観察が可能な X 線写真を利用する方法は、計測時の写真の拡大・トレース作業が必要で、作業も煩雑になるため計測誤差が生じる恐れがある。また歯根部では彎曲や分岐もみられるため、二次元的観察だけで歯全体の形態情報を捉えるには不十分である。近年のデジタル化技術の進歩により、高感度で高画質の画像が簡便に得られ、膨大な画像データも容易に記録ができるようになった。先行する研究では、試料として主に切歯、犬歯、下顎小白歯などが用いられている。そのなかで前歯は歯根形態が単純である反面、前方に位置するため外力を直接受ける可能性がある一方で大臼歯は、歯根形態が多様であり、他歯種に比べ喪失率が高い傾向にある。そこで本研究では形態が比較的単純、かつ口腔内に残存しやすい小白歯部のうち上顎小白歯を試料とし、マイクロ X 線 CT を用いて撮影した。その際、撮影データは、三次元立体構築ソフトを用い、スライス画像からボリュームレンダリング法により、三次元立体構築画像を作製し、内部構造の観察を行い、複数の計測結果について年齢推定の精度を比較した。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Comparison of age estimation accuracy for maxillary premolars using micro CT

○Asami R¹, Aboshi H², Iwawaki A¹, Ishii T¹, Ohtaka Y³, Odaka K⁴, Abe S⁵, Saka H^{1,6}

¹Meikai Univ Sch Dent Div Forensic Odontol, ²Nihon Univ Sch Dent Dept Leg Med, ³Meikai Univ Sch Dent Div Dent Radiol, ⁴Tokyo Dent Coll Dept Oral Maxillofac Radiol, ⁵Tokyo Dent Coll Dept Anat, ⁶Meikai Univ Sch Dent Forensic Odontol Cent

When age estimation of unknown remains is performed using teeth, they are resistant to decay due to inorganic components, they remain for a long time after death, and changes due to aging are also observed. Furthermore, the features intraoral including trace of dental treatment is vary widely individual. That is why in the forensic field, teeth are considered to be very useful materials to estimate age.

In the early studies, polished specimens were used. However, as damage and deformation of the subjects are inevitable, this method is not preferred in forensic medicine. A method using X-ray, allowed non-destructive observation of the subjects. However, there is a risk of error because measuring requires complicated procedures of enlargement and image tracing. In addition, the pulp cavity has very complex curvature and furcation. Therefore, two-dimensional observation is not sufficient to capture accurate tooth morphology. In this study, we focused on maxillary premolars, which have a simple shape and generally remain intraorally. Images of maxillary premolar were taken using micro CT, and the internal structure of the crown was observed three-dimensionally, age estimation was performed based on the volume change with aging, and the accuracy of age estimation was compared for multiple items.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-07 顎顔面再建手術後の歯科インプラント埋入を想定した日本人腓骨の形態学的基礎研究

○廣内 英智, 小川 雄大, 橋本 千明, 高木 貴博, 山本悠太郎, 松永 智,
阿部 伸一

東歯大 解剖

【目的】腓骨を用いた顎顔面再建手術は栄養血管を有する皮弁を用いることで、歯科インプラントによる咀嚼回復が図れる長所があり、欧米では盛んに行われている。しかしながら、日本人の腓骨は欧米人と比較して細いとされ、主に腸骨や肩甲骨が顎顔面再建手術に用いられているのが現状である。そこで本研究では、顎顔面再建手術への応用を視野に入れた基礎データ収集を目的として、日本人腓骨の骨量/骨質、生体アパタイト結晶およびコラーゲンの走行の解析を行った。

【方法】東京歯科大学解剖学講座所蔵の実習用遺体から採取した腓骨 (n=5) をマイクロCTにて撮影した。顎骨再建とインプラント埋入を想定し、腓骨の骨幹部を関心領域とした。骨質解析として、微小領域エックス線回折法を用いて生体アパタイト結晶の配向性を解析するとともに、二光子励起位相差顕微鏡を用いて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】腓骨骨幹部の横断面において骨量/骨質を計測したところ、ヒト無歯顎上下顎骨と比較して高い値が測定された。中でも腓骨骨幹部の遠位における領域では最も高い値を示し、長母指屈筋、後脛骨筋の付着部領域においては最も低い値を示した。生体アパタイト結晶の配向は、腓骨の長軸方向に一軸優先配向が認められた。一方コラーゲン線維の走行は、腓骨骨幹部全体に層板様構造を確認したが、筋付着部においては筋の作用方向に向かっていった。【考察】腓骨単体での移植による顎骨再建を想定した場合、日本人の腓骨は歯科用インプラントによる補綴処置において十分な骨量/骨質を有することが示唆された。しかしながら筋付着部領域においては、骨量/骨質は低い値を示し、コラーゲンの走行も不均一であった。また顎骨再建に伴って付着筋は皮弁として用いられるため、筋付着部以外の領域にインプラント体埋入を求めることが必要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。

Morphological basic examination of Japanese fibula for osseointegrated implant installation after maxillofacial reconstruction

○Hirouchi H, Ogawa Y, Hashimoto C, Takagi T, Yamamoto Y, Matsunaga S, Abe S

Dept Anat, Tokyo Dent Coll

[Purpose] In this study, we analyzed bone mass/bone quality, biological apatite and running of collagen in the Japanese fibula in order to collect basic data for application to maxillofacial reconstruction surgery.

[Materials & Methods] The fibulae (n=5) collected from the cadavers for practice from the department of anatomy of Tokyo Dental College were imaged by using micro-CT. Assuming the reconstruction of mandible and implant placement, the shaft of fibula were set as the regions of interest. [Results and Discussion] In case of the reconstruction of mandible with a fibular graft alone, it is suggested that Japanese fibulae have sufficient bone mass/bone quality in the prosthetic treatment with dental implants. However, in the muscle attachment area, bone mass/bone quality showed a low value, and running of collagen was also uneven. In addition, it is thought that it is necessary to seek implant placement in the area other than the muscle attachment, because the attached muscle is used as a flap in conjunction with the reconstruction of mandible.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-08 舌癌と High mobility group box 1 (HMGB1) の関係

○小笠原悠大¹, 崎山 浩司¹, 小野澤 豪¹, 長坂 新¹, 坂東 康彦¹, 天野 修¹

¹明海大 院歯 解剖

²明海大 院歯 口腔外科²

【目的】 High mobility group box 1 (HMGB1)は、癌周囲の正常な筋線維が壊死を起こすと強く発現する。舌癌における周囲への浸潤は、癌細胞から放出される HMGB1 が周囲の正常筋組織を壊死させ、さらに、壊死した筋組織からも HMGB1 が放出される。筋組織の壊死に伴ってきた空隙を伝い、遠方の筋組織も壊死させることにより浸潤していくと考えられている。また、浸潤に MMP-2 が関与することも報告されている。一方で、炎症後の筋線維の修復においても HMGB1 の関与が示唆されている。そこで、癌により壊死した筋線維が再生する過程で HMGB1 がどのように関与するかを検索した。さらに、HMGB1 のレセプターである Receptor for advanced glycation end-products (RAGE)が筋の再生過程で関与するのかについても検索した。**【方法】** BALB/cAJcl ノードマウスを用い、舌尖の左側方に SCC7 癌細胞を注入した。注入頻度は1週間に1度のペースで計1回行い、SCC7 移植・着床を試みた。さらに、ポジティブコントロールとして同頻度で DMEM 培養液を注入した。これらを、それぞれ SCC7 細胞注入群、及び DMEM 注入群と設定した。注入終了後、2週、3週、4週経過した後に試料を採取し観察を行った。観察部位は舌中央とし、抗 HMGB1 抗体、抗 RAGE 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行い観察した。**【結果および考察】** SCC7 細胞注入群では、すべての試料に壊死した筋線維が確認された。また、筋線維が壊死し空隙となった部位に、中心核をもつ筋細胞が認められた。これにより、壊死した部位で筋線維が再生されていることがわかった。さらに、筋線維が壊死した部位では、HMGB1 と RAGE の発現が認められたが、再生した筋線維の部位では、RAGE の発現はなく、HMGB1 が核と筋線維周囲の間質にも局在した。以上のことより、壊死した筋線維から周囲に放出された HMGB1 は筋線維の再生を誘導するのではないかと考えられた。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Relationship between tongue cancer and High mobility group box 1 (HMGB1)

○Ogasawara Y¹, Sakiyama K¹, Onozawa G¹, Nagasaka A¹, Bando Y¹, Amano O¹

¹Dept Anat, Meikai Univ Sch Dent

²Dept Oral Surg 2, Meikai Univ Grad Sch Dent

High mobility group box 1 (HMGB1) is expressed in peri-cancerous myofibers undergoing necrosis. On the other hand, the involvement of HMGB1 in the repair of myofibers after inflammation has been suggested. Therefore, we investigated how HMGB1 participates in the process of myofiber regeneration. We also investigated the expression of receptor for advanced glycosylation endproducts (RAGE), a receptor for HMGB1. The SCC7 cells were injected once a week into the tongue of BALB/cAJcl nude mice in order to create the tongue cancer model. Samples were collected after 2, 3 and 4 weeks after the end of the injection. myofiber in tongue were destroyed in SCC7 cells injected in mice. Both HMGB1 and RAGE were expressed in peri-cancerous myofibers and the cancer cells. In addition, HMGB1-positive and RAGE-negative regenerating myocytes with a central nucleus around the cancer were found. These results suggested that HMGB1 is involved in myofiber regeneration in tongue cancer model mice.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-09 介護施設入所者における唾液中の認知機能マーカーの探索

○東 雅啓¹, 猿田 樹理¹, 山本 裕子², 坂口和歌子¹, 松尾 雅斗¹, 槻木 恵一¹

¹神歯大 院歯 口腔科学

²神歯大 短期 歯科衛生

超高齢社会を迎えた日本では認知症有病率の増加が社会問題となっており、患者本人の QOL の維持・向上のためにも、その早期診断や病態のモニタリングが必要である。そこで我々は先行研究として認知症モデルマウスを用いたメタボローム解析による唾液中認知機能マーカーの探索を行い、認知機能障害により複数の物質が変動することを報告した。この研究を基に、介護施設に入所する高齢者における認知機能障害の病態と唾液成分変化との関連性を検討した。特別養護老人ホーム寒川ホームと介護老人保健施設ほのほの入所者のうち、インフォームドコンセントに基づき本人と家族の了解の得られた被験者を対象とした（神奈川歯科大学研究倫理審査委員会承認番号第 420 番）。被験者に対しては長谷川式認知症スケールにより認知障害の病態を評価し、唾液採取を行った。そして、認知機能障害により変動する唾液成分を、キャピラリー電気泳動・飛行時間型質量分析装置（CE-TOFMS）を用いてメタボローム解析を行った。唾液中の代謝産物に関して長谷川式認知症スケールとの関連を検討したところ、様々な物質でスケールとの関連が認められた。これらのことから、高齢者における唾液中の代謝産物が認知機能マーカーとして有用であることが示唆された。今後はさらに被験者を増やして検討するほか、認知症の種類（アルツハイマー型やレビー小体型など）による比較も行い、認知症のみならずフレイルの評価への応用も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。

Relationship between cognitive impairment and salivary metabolites in elderly nursing home residents

○To M¹, Saruta J¹, Yamamoto Y², Sakaguchi W¹, Matsuo M¹, Tsukinoki K¹

¹Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

²Dept Jr Coll, Kanagawa Dent Univ Sch Dent Hygiene

Dementia is a progressive neurodegenerative disease resulting in cognitive impairment among the elderly. Early diagnosis and monitoring are required to sustain and improve the quality of life of patients with dementia. Our previous study demonstrated the alteration of metabolites in the saliva collected from experimental mouse models of Alzheimer's and cerebrovascular diseases. To determine whether cognitive impairment in humans affect the salivary metabolomic profile, we investigated the change in the saliva of elderly nursing home residents. The saliva samples of 87 elderly volunteers residing in 2 nursing homes were collected. This study was approved by the ethics committees of the Kanagawa Dental University (approval number: 420). The pathological analysis of cognitive impairment was evaluated using the Hasegawa Dementia Scale. Change in the salivary metabolomic profiles was examined using metabolomic analyses with capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry. Our data indicated that the salivary metabolomic profile among elderly residents of nursing homes show alteration in various metabolites due to cognitive impairment. Our findings indicated the presence of a novel salivary marker for monitoring cognitive functions in humans.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-10 C57BL/6J マウスにおける三叉神経中脳路核の神経変性に対する上顎臼歯抜歯の影響

○Dhar Ashis, 倉本恵梨子, 岩井 治樹, 山中 淳之, 後藤 哲哉

鹿大 院医歯 歯科機能形態

The effects of maxillary molar extraction on the neurodegeneration of the trigeminal mesencephalic nucleus in C57BL/6J mice

○Dhar A, Kuramoto E, Iwai H, Yamanaka A, Goto T

Dept Oral Anat & Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent

Purpose: Trigeminal mesencephalic nucleus (Vmes) neurons innervating the periodontal mechanoreceptor are known to play an important role in controlling the mastication. After tooth loss, mechanoreceptors are known to disappear due to loss of the periodontal membrane. The objective of the study is to examine the degeneration of Vmes neurons by the damage of their nerve ending after the tooth extraction. Materials and Methods: In this study we used 8-week-old C57BL/6J wild type mouse. Bilateral maxillary molars were extracted under general anesthesia. Immunofluorescence staining was performed using primary antibodies against Piezo-2 and ATF3. For the anterograde labeling, fluorogold (FG) was injected tooth socket after the tooth extraction and masseter muscle. For the retrograde labeling, biotinylated dextran amine (BDA) was injected into Vmes directly. Results: At 5 days after tooth extraction damaged ATF3 positive Vmes neurons appeared, damaged Vmes neurons observed at the caudal part of Vmes. Injection of FG in the tooth socket also showed the strong connection between extracted tooth sockets and Vmes neurons. At 10 days ATF3 positive Vmes neurons were decreased, but increased at 1 month after extraction. Number of FG positive neurons were not changed between at 5 days and 10 days. The average size in diameter of the Vmes neurons projected to tooth socket was smaller than those from masseter muscle. At 1 month after tooth extraction the total number of Vmes neurons were significantly less than those in control mice ($P < 0.05$). Discussion: Our study suggested that due to periodontal connectivity with the Vmes neurons, tooth extraction causes neuronal degeneration. After the tooth extraction damaged Vmes neurons can be observed within 5 days, some damaged Vmes neurons were dead within 10 days. At 1 month after extraction, chronic effects still continued.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-11 ウシの臼歯に見られた新規型の異常歯である分割歯の一例報告

○小寺 稜¹, 千葉 敏江²

¹鶴大 歯 解剖 II

²鶴大 歯 解剖 I

我々は今回、家畜ウシの左下顎から得られた臼歯において、異常歯を発見した。その歯は第2大臼歯が近遠心方向に2分割し、形成不全が見られるものの完全に別の2本の歯として釘植され、それぞれ1本の歯根と大きく変形した歯冠をもっていた。歯冠は側面をエナメル質がとりまき、さらに歯冠および歯根セメント質が覆う。マイクロCTの観察から、これら2本の歯はそれぞれ1本の歯としての形態をもち、二次的な破折などによる分割ではなく、発生過程の異常であることが確認された。

哺乳類における歯の発生異常は多数知られているが、これまでに報告されている歯の異常のなかに、このような1つの歯が複数に分割する例は知られていない。既知の歯数異常における歯数過剰は多くの場合、正常な形態をした歯に加えて、矮小化した過剰歯の出現が見られるのがほとんどである。つまり、本例は既知の異常歯にはない、新しい異常型である可能性がある。

なお、本例の見られた標本と同一個体の反対側である、下顎右側第2大臼歯は分割はせずに1本の歯ではあるが、左側同様形成不全が見られた。マイクロCTの観察から、分割歯ならびにその反対側の第2大臼歯の内部構造には、Odontodysplasia様の形成不全が認められた。さらに、第2大臼歯に隣接する第1大臼歯の歯冠の遠心隣接面には、両側ともに大きな肥厚部が見られた。この肥厚部を構成する象牙質にもOdontodysplasia様の多数の不規則な空洞が見られた。

この分割歯は1つの歯胚がその形成過程において、病的な外因等により歯胚が損傷を受けて2つに分裂し、分裂した歯胚がそれぞれの歯として修復、形成されたことが推測された。ゆえに、1つのエナメル器から2つの歯が形成される可能性を示唆している。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

A case report of a divided molar found in domestic cattle: a new type of anomalous tooth

○Kodera R¹, Chiba T²

¹Dept Anat Histocytol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

²Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med

We found an abnormal tooth in the second molar of the left lower jaw of domestic cattle. The tooth was completely divided into two parts, the mesial and distal parts. It was observed that each of these teeth had a greatly deformed crown with hypoplasia and only one root. Micro-CT observation confirmed that it was not a division by secondary breakage but an abnormality of the developmental process.

Although there have been a lot of reports of mammalian dental abnormalities in the past, there is no known case in which such one tooth divides into multiple parts. In the known cases of supernumerary number of teeth, the microdontia added to normal teeth is often seen. On the other hand, the present example of divided tooth may be a new anomaly type. It was speculated that the origin of this divided tooth was that one tooth germ was damaged by some external force and divided into two, and the divided tooth germ was repaired it self and then formed as each two teeth. Therefore, it suggests that two teeth may be formed from one enamel organ.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-12 機械学習による残存歯認識モデル開発と学習過程の可視化による解析

○清野 雄多, 大島 勇人

新潟大 院医歯 口腔生命科学

【目的】 歯科における人工知能関連技術は、エックス線写真を用いた歯種鑑別や齲蝕検出が知られている。我々は、災害時の個人識別や初診時の治療難易度評価を目的とし、口腔内写真を用いた残存歯認識モデルを開発してきたが、その認識過程は不明であった。そこで今回、学習内容の可視化技術を用い、本モデルの解析を行った。

【方法】 ランダムな欠損をもつ歯列弓をソフトウェア上で12万枚生成し、これを教師データとした。歯列は粘膜（歯肉、口蓋、舌）を含むものと含まないものがあるが両者を合わせて教師データとした。モデルの構築では、機械学習ライブラリであるTensorflowとKerasを用いて畳込みニューラルネットワークをつくり、精度99%以上で残存歯を識別するモデルを得た。このモデルに対し、CAM (class activation map) を用いて注目領域をヒートマップで示した。

【結果と考察】 ヒートマップを作成した4つの畳込み層を浅い順に層1-4と呼ぶ。層1では残存歯と注目領域が重なっており、特に残存歯の頬側咬頭あるいは頬側歯肉が注目されていた。上顎では小臼歯から大臼歯部の口蓋粘膜が注目される画像が4割程度存在し、下顎では全ての画像で舌尖部が注目されていた。層2-3では、背景に注目領域が移り、残存歯の頬側にある背景（無地の黒色）が注目された。層4は最も変化に富み、画像の四隅や上半分あるいは下半分、さらに左右対称の注目領域を示すヒートマップが得られた。以上より、本モデルでは上下の区別は口蓋と舌に起因することが示唆され、浅い層では頬側の歯冠形態、深い層では歯以外の余白に注目していることが分かった。本モデルはそれぞれの歯種が持つ固有の歯冠形態よりもむしろ、欠損による空白を認識することで歯列全体を捉え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。

Development of residual tooth recognition model by machine learning and its analysis with visualization of learning process

○Seino Y, Ohshima H

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

[Purpose] We have developed a tooth recognition mode for the purpose of personal identification during disasters and evaluation of difficulty in treatment. We analyzed this model using visualization technology to clarify the recognition process.

[Method] We constructed a model with Tensorflow and Keras, which could identify remaining teeth with an accuracy of over 99%. CAM (class activation map) is applied to show the region of interest (ROI).

[Results and Discussion] The four layers where the heat map was created were named "layers 1...4" in order of shallowness. In layer 1, the ROI overlapped with teeth. In the mandible, the apex of the tongue was focused in all the images. In layer 2-3, the ROI moved to the background (solid black) on the buccal side of the teeth. Layer 4 showed various ROI that emphasize four corners, upper half or lower half of the image. Thus, the findings suggest that the distinction between maxilla and mandible is determined by the palate and the tongue in this model. In addition, ROI is focused on the crown shape in the shallow layer and the margin other than the tooth in the deep layer.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-13 マウス大腿骨軟骨における TRPV4 の発現

○田原 愛理¹, 高 イキ¹, 曹 愛琳^{1,2}, 大崎 康吉¹, 本田 裕子¹, 内野 加穂¹,
西田 寛汰¹, 城戸 瑞穂^{1,2}

¹佐賀大 医 組織・神経解剖

²九大 院歯 口腔病理

【目的】 TRPV4 (transient receptor potential-vanilloid 4) は浸透圧や伸展刺激, 温度刺激などにより活性化されるカルシウム非選択的透過性の陽イオンチャネルである. TRPV4 のヒト遺伝子変異では, 低身長や軟骨異形成, 椎骨間隙の減少, 脊柱側弯症, 脊柱後弯症を特徴とする骨格異形成を起こす. また, 軟骨特異的 TRPV4 遺伝子欠失マウスでは加齢に伴う変形性関節炎が低減することなどが報告されている. しかし, TRPV4 が軟骨細胞においてどのように機能しているのかは未だ明らかではない. そこで, 本研究では軟骨組織における TRPV4 発現と炎症モデルとの関与を明らかにすることを目的とした. **【方法】** 6 週齢の雄性 C57BL/6N マウスに, アレルゲンである卵白アルブミン (OVA) とアジュバンドとして水酸化アルミニウムゲル (Alm) を腹腔投与し, 4 日間 OVA 溶液を吸入させ喘息モデルとした. 対照群は, Alm のみ, PBS のみをそれぞれ投与した. マウスは 4% パラホルムアルデヒドにより灌流固定し, 大腿骨を取り出した. 組織は脱灰後, 通法に従って凍結切片を作製, 免疫染色による組織学的な解剖を行った. **【結果と考察】** 野生型マウスの大腿骨では, 軟骨細胞, 骨細胞, 骨芽細胞, 破骨細胞に TRPV4 の発現を認めた. TRPV4 は増殖層の軟骨細胞に強い発現を示した. また喘息群の軟骨組織における TRPV4 発現は対照群と比較して有意に減少していた. 以上から, 軟骨代謝調節への TRPV4 の関連が考えられた.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

The expression of TRPV4 for cartilage in the mice femur

○Tabaru A¹, Gao WQ¹, Cao AL^{1,2}, Ohsaki Y¹, Honda Y¹, Uchino K¹, Nishida K¹,
Kido MA^{1,2}

¹Dept Anat Physiol, Saga Med Sch

²Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Purpose: TRPV4 (transient receptor potential-vanilloid 4) is a calcium permeable nonselective cation channel, which is activated by hypo-osmolarity, shear stress, or temperature changes. It is reported that human TRPV4 gene mutations associated with skeletal dysplasia and the progression of age-related and post-traumatic osteoarthritis. To elucidate TRPV4 function in cartilage tissues, we explored the expression of TRPV4 and compared with the inflammation model. **Materials and Methods:** 6 weeks -old C57BL/6N male mice were intraperitoneally administered ovalbumin (OVA) as an allergen and aluminum hydroxide gel (Alm) as an adjuvant three times every week followed by OVA solution is inhalation for 4 days as an asthma model. Alm only or PBS only-injected mice were use as controls. the mice were perfused with 4% paraformaldehyde, and processed for immunohistochemistry. **Results and Discussion:** Expression of TRPV4 was observed in chondrocytes, osteocytes, osteoblasts and osteoclasts in the mice femur. Strong immunoreactivity for TRPV4 is observed in the proliferating zone of the cartilage. The amount of TRPV4 in the asthma model mice was significantly smaller than that of the control mice. It is suggested that TRPV4 might play a role in cartilage metabolism.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interests.

P1-14 マウス口腔扁平上皮癌細胞 (OSCC) 株 Sq1979 の IL-1 α 産生能および免疫抑制活性に対する低血清および低酸素条件の影響

○松並 晃弘¹, 神谷 真子^{2,3}, 川木 晴美², 高山 英次², 梅村 直己², 上野 恭平²,
安藤 恵², 村松 泰徳¹, 住友伸一郎¹, 近藤 信夫²

¹朝日大 歯 口外, ²朝日大 歯 口腔生化, ³朝日大 営 化学

【緒言】 C3H マウス OSCC 株 Sq1979 は IL-1 α を産生し, 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- γ 産生能の抑制作用を促進し, 間葉系細胞を介した免疫抑制機構を促進することが示されている (Morimoto-Ito H, Open Dent J. 印刷中). 腫瘍組織内部では, 脈管系の分布や間質組織との相互作用で栄養状態や嫌気的条件が部位特異的に異なることが考えられる. 本研究では, 異なる微細環境における OSCC の免疫制御の変化を探るため, 低血清濃度や低酸素状態における Sq1979 細胞の IL-1 α 産生と免疫抑制作用の変化を検討した. 【材料・方法】 Sq1979 細胞を異なる血清濃度 (0, 0.1, 0.5, 1, 3, 10% FBS) または, 10% FBS, 0.1% の低酸素状態で培養し, 馴化培養液 (CM) 存在下, 非存在下で, 10T1/2 細胞の発揮する, 刺激脾細胞の IFN- γ 産生能の抑制作用に対する影響を検討した. 次いで, CM 中の IL-1 α 濃度を ELISA 法で検討した. 【結果・結論】 3% の FBS では 10% とほぼ等しい IFN- γ 産生能の抑制作用が観察されたが, 1% 以下では有意に抑制作用が増強した. CM 中の IL-1 α 濃度は 3% の FBS では 10% とほぼ等しい値を示したが, 1% 以下では顕著に上昇した. 一方 0.1% の低酸素状態で培養した CM では 10T1/2 細胞の刺激脾細胞に対する IFN- γ 産生能の抑制作用は増強しなかった. 以上の結果から, Sq1979 細胞は低血清条件において IL-1 α 産生を高め, 間葉系細胞を介した免疫抑制を増強した. 一方, 低酸素状態ではこの間葉系細胞を介した免疫抑制作用に変化は観察されなかった.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Effects of low serum or hypoxia upon IL-1 α production and immunosuppressive activity of mouse oral squamous cell carcinoma (OSCC), Sq1979 cells

○Matsunami A¹, Kamiya M^{2,3}, Kawaki H², Takayama E², Umemura N², Ueno K², Ando M²,
Muramatsu Y¹, Sumitomo S¹, Kondoh N²

¹Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent, ²Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, ³Dept Chem, Asahi Univ Sch Business

IL-1 α released from C3H mouse oral squamous cell carcinoma cell line Sq1979 promotes immune suppression via mesenchymal stromal cells (Morimoto-Ito H, Open Dent J. In press). In order to investigate if tumor micro environments could affect the immune-regulatory activity of Sq1979 cells, we examined IL-1 α production and immune-suppressive activity of Sq1979 cells under varied serum concentration and hypoxic conditions. Sq1979 cells were cultured under different serum concentrations (0, 0.1, 0.5, 1.3, 10% FBS) and under hypoxia (0.1% oxygen), and the resulting conditioned medium (CM) was used. In the mixed culture with CMs, we examined the suppressive effect of 10T1/2 cells upon IFN- γ -production of stimulated spleen cells. Furthermore, the IL-1 α concentration in the conditioned medium was examined by ELISA. The immune-suppressive activity of CM was the same between 10% and 3% FBS, however that was enhanced in CMs containing 1% or lower FBS concentration. However the suppression was not enhanced even in the CM with hypoxic (0.1% oxygen) condition. The concentration of IL-1 α in the CM was unchanged between 10% and 3%, however that was significantly elevated in CM with less than 1% FBS.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-15 KLF5 遺伝子発現制御機構の解析

○富山 希美

日歯大 生命歯 生化

上皮組織の恒常性維持には上皮細胞の増殖と分化のバランス保持が重要であり、中でも Kruppel-like factor 5 (KLF5) は上皮細胞の増殖・分化バランスを直接的に制御し、細胞分化とともに急速にその発現を停止するが、KLF5 遺伝子の発現をコントロールするメカニズムは不明な点が多い。これまでに KLF5 遺伝子の基本的発現に関与する minimal essential region (MER) が転写開始点下流の+145~+330 に存在し、そこに結合する主要転写因子が Sp3 であることを明らかにした。本研究では KLF5 発現を抑制的に制御するサイレンサー領域とそれに関与する転写因子を明らかにすることを目的とする。KLF5 遺伝子における-2,894~+424 を最長とし段階的に短くしたクローンを作成して 293T (ヒト胎児腎細胞) と HSC2 (ヒト口腔癌細胞) を用いてレポーターアッセイを行ったところ、-2,001/+424 と -1,576/+424 クローン間で活性値が上昇した。また、-2,001~-1,577 と MER を結合させたクローン-2,001/+424 delta (-1,576/+144) を作成しレポーターアッセイを行ったところ、MER クローン (+145/+424) と比較して有意に活性値が減少した。-2,001~-1,577 間には CREB の結合が予測されるサイトが 3 つ存在し (CREB site-1, 2, 3), ChIP assay にて CREB の結合を解析したところ、抗体濃度依存的に-2,001~-1,577 領域の沈降が確認できた。さらに CREB が KLF5 の転写に及ぼす影響を、CREB を knockdown もしくは過剰発現させた口腔癌細胞を用いてレポーターアッセイにて解析したところ、活性値は CREB の knockdown 下で有意に上昇、CREB 過剰発現下で有意に減少した。また、以上のことから、-2,001~-1,577 間に KLF5 遺伝子のサイレンサー領域が存在し、それに関与する転写因子は CREB 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。

Analysis of KLF5 gene expression and regulation mechanisms

○Tomiyama N

Dept Biochem, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

KLF5 regulates proliferation-differentiation balance of epithelial cells, and its expression is rapidly arrested with cell differentiation. However, detailed mechanism of KLF5 expression in epithelial cells remains unknown. We previously reported that a 286 bp region (+145 to +330) downstream of the transcription start site acts as the MER and that Sp3 is a major transcription factor binding it. The aim of this study is to identify a silencer region and binding proteins of KLF5 gene. We performed reporter assays using plasmids cloned with the stepwise deletion upstream of KLF5 gene as -2,894/+424 to -1,576/+424. Relative luciferase activity (RLA) was significantly increased between clone-2,001 and -1,577/+424. We prepared clone-2,001/+424 delta (-1,576/+144) to performed reporter assays. RLA of clone -2,001/+424 delta (-1,576/+144) was significantly decreased compared to MER. Potential CREB binding sites were contained in a 425 bp region (-2,001 to -1,577), and ChIP assays showed that CREB antibody precipitated the region depending on antibody concentration in endogenous genome. Furthermore, knockdown or exogenous overexpression of KLF5 arranged cells were increased or decreased RLA. These data suggest that a 425 bp region regulated gene expression as a silencer, and CREB was a primary binding protein binding to the region.

Conflict of Interest: The author declares no conflict of interest.

P1-16 エナメル質形成過程における TGF- β アイソフォームについて

○千葉理紗子, 唐木田丈夫, 山本 竜司, 山越 康雄

鶴大 歯 分子生化

【背景】トランスフォーミング成長因子ベータ (TGF- β) は、歯の形成に関わる重要な生理活性物質であり、哺乳類では3種類のアイソフォーム (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) が存在する。また、エナメル質形成過程における基質形成期では、オートクリン作用によって細胞内シグナル伝達を引き起こすが、どのような影響を及ぼすかについては不明な点が多く残されている。我々はこれまでに、*in vitro* の実験において TGF- β 1 は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。さらに、TGF- β アイソフォームの違いによって細胞増殖能や、遺伝子発現の量に差があることを示した。【目的】今回我々は、マウスエナメル上皮細胞株 (mHAT9d) を用いて、TGF- β アイソフォームごとのアポトーシス、及びエンドサイトーシスへの影響を調べることを目的とした。【材料・方法】mHAT9d 細胞に TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 を添加し、10日間培養後、抗 Caspase 3 抗体を用いた免疫染色を行い、アポトーシス指数を測定した。また、同様の条件で培養した mHAT9d 細胞に、生後5カ月のブタ第二大臼歯より抽出・精製したアメロゲニン蛍光標識したものを添加し、アイソフォームごとのエンドサイトーシスの観察を行った。【結果・考察】免疫染色では、TGF- β の添加群はコントロール群と比較して、アポトーシスの割合が有意に高く、特に TGF- β 3 添加群が最も高かった。また、エンドサイトーシスの観察において、TGF- β 1, TGF- β 3 添加群はアメロゲニン添加1, 2時間後に、細胞内にアメロゲニンが取り込まれた様子を確認した。以上の結果より、TGF- β はアイソフォーム特異的にアポトーシスおよびエンドサイトーシスの制御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。

TGF- β isoforms in the process of enamel formation

○Chiba R, Karakida T, Yamamoto R, Yamakoshi Y

Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

Background: Transforming growth factor- β (TGF- β) is involved in tooth formation. It is three isoforms (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) in mammals. We have previously shown that TGF- β 1 causes the signaling in ameloblasts by autocrine and TGF- β isoforms separately regulates cell proliferation and gene expression of ameloblasts during amelogenesis. **Our objectives:** are to investigate apoptotic induction and endocytosis of enamel protein by TGF- β isoforms (TGF- β 1, TGF- β 2 and TGF- β 3) during amelogenesis. **Methods:** Using mHAT9d cells cultured in the presence of each TGF- β isoform, immunostaining with anti-cleaved caspase-3 monoclonal antibody was performed and apoptotic indices were measured. Moreover, the uptake of amelogenin into mHAT9d cells was directly observed using a fluorescence microscope. **Results and Discussion:** In immunostaining have shown that TGF- β induces apoptosis and that, in particular, TGF- β 3 caused extensive apoptosis of mHAT9d cells. Imaging of Endocytosis at 1 and 2 h after the uptake revealed that both TGF- β 1 and TGF- β 3 enhanced the fluorescence intensity of amelogenin, compared to that of the control without TGF- β treatment. **Conclusion:** From the above results, it is suggested that TGF- β is involved in regulated in an isoform-specific manner to apoptosis and endocytosis.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-17 再生医療における MSC の代替細胞としての HUCPVC

○野々山 駿¹, 唐木田丈夫², 山本 竜司², 長野 孝俊¹, 山越 康雄², 五味 一博¹

¹鶴大 歯 歯周病

²鶴大 歯 分子生化

【目的】未分化間葉系細胞(MSC)の代替として臍帯のワルトンジェリー周囲領域にあるヒト臍帯血管周囲細胞(HUCPVC)に注目し、再生医療に対して使用可能かどうかを調べることを目的とした。HUCPVCがMSCの代替として使用可能であれば、MSCと同等以上の採取が可能であることと通常医療廃棄物として処理されてしまう臍帯から採取ができるために倫理上の制約がなく生来の細胞を用いるためリスクが低い可能性があるという利点がある。本研究では第一段階としてHUCPVCが骨芽細胞への分化能を有しているかの検証を行った。【材料と方法】HUCPVCに骨誘導因子(BMP2)、トランスフォーミング増殖因子(TGF- β)、BMP阻害剤(LDN)、TGF- β 阻害剤、活性型ビタミンDを様々な組み合わせで添加し、培養日数を3日目、7日目、14日目と経時的変化を追いながら石灰化誘導、アルカリホスファターゼ(ALP)活性、遺伝子発現を解析することでin vitroにおいて骨芽細胞への分化能を有しているかの比較検討を行った。【結果と考察】HUCPVCに活性型ビタミンDとLDNあるいは活性型ビタミンDとTGF- β とLDNを添加することでALP活性の上昇とRUNX2、オステオポンチン、I型コラーゲンの発現が見られたため、骨芽細胞に分化する可能性があることが示唆された。しかしながらTGF- β やBMP2の単独の添加、あるいは活性型ビタミンDとTGF- β 、活性型ビタミンDとBMP2を添加してもALP活性の上昇や遺伝子発現誘導が認められなかった。このことからHUCPVC内にある内在性のBMPがLDN添加により阻害されることで骨芽細胞への分化を引き起こしている可能性があることが推察された。以上のことからHUCPVCにはMSCの代替として使用可能であ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。

HUCPVC as an alternative cell of MSC in regenerative medicine

○Nonoyama S¹, Karakida T², Yamamoto R², Nagano T¹, Yamakoshi Y², Gomi K¹

¹Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

²Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Objectives: We focused on human umbilical cord perivascular cells (HUCPVC) in the area around the Wharton's Jelly of the umbilical cord as a substitute for undifferentiated mesenchymal cells (MSC) and aimed to investigate whether it could be used for regenerative medicine. In this study, we examined whether HUCPVC has the ability to differentiate into osteoblasts. Material and Methods: Substances such as bone morphogenetic protein-2 (BMP2), transforming growth factor-beta (TGF- β), BMP inhibitor (LDN), TGF- β inhibitor (SB) and active vitamin D are added to HUCPVC in various combinations. Experiments were performed with alkaline phosphatase (ALP) activity, gene expression, and calcification induction in vitro. The culture days were 3 days, 7 days and 14 days. Results: Elevation of ALP activity and expression of RUNX2, OPN and Type I collagen were observed by adding active vitamin D and LDN, or active vitamin D and TGF- β and LDN to HUCPVC. The study found that LDN is essential. This indicates that HUCPVC can be differentiated into osteoblasts by endogenous BMP inhibition. HUCPVC has the potential to replace MSC.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-18 (取り下げ)

P1-19 温熱による癌細胞の糖代謝活性への影響

○小林 ゆり, 鷲尾 純平, 篠原 優太, 高橋 信博

東北大 院歯 口腔生化

【目的】 癌治療のひとつである温熱療法は、化学療法や放射線療法と比べ、副作用及び患者の苦痛が少ないことが特徴とされ、発展が期待されている。本療法による効果の基礎医学的根拠は、温熱による細胞生存率の低下が正常細胞と比べ癌細胞において大きいことであり、例えば HeLa 細胞（ヒト子宮頸癌細胞）に 43℃ の温熱を 1 時間加えた際、生存率が約半分に低下することが報告されている (E. W. Gerner et al, 1976)。一方、癌細胞は一般的に解糖系を亢進しエネルギーを獲得することが示唆されている。そこで我々は、温熱が癌細胞の解糖系を傷害する可能性を考え、検討した。

【方法】 実験には、ヒト口腔扁平上皮癌細胞 2 種 (HSC-2, HSC-3)、熱感受性が高いとされる HeLa 細胞、及び正常細胞としてヒト正常皮膚角化細胞 (HaCaT) を用いた。これらの培養細胞によるグルコースを基質とした酸産生活性を pH-stat システムを用いたりリアルタイム代謝モニター法で測定した。代謝活性測定時の温度環境を、初めの 10 分間は 37℃、次の 10 分間は 43℃ とし、各温度環境下の代謝活性を比較検討した。

【結果・考察】 本手法にて、全ての細胞のグルコースからの酸産生活性を評価可能であることが確認された。酸産生活性は培養毎に異なるものの、HSC-2 と HeLa の活性は高い傾向が見られた。また、酸産生活性は、37℃ と比べ 43℃ にて、HSC-2 で $7.4 \pm 6.6\%$ 減少、HSC-3 では $4.9 \pm 5.4\%$ 減少、HeLa では $2.6 \pm 30.1\%$ 増加、HaCaT では $9.1 \pm 34.1\%$ 増加となったが、いずれも有意ではなかった。なお、測定前後での細胞生存率が大きく変化しないことを、トリパンブルー染色にて確認した。本研究結果より、43℃ の温熱による糖代謝活性への影響は、過去の報告にある温熱による細胞生存率低下率と比べ、ほとんど影響しないことが示された。温熱による細胞生存率の低下は、エネルギー産生源である解糖系の抑制ではなく、他の原因によ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 heating on the metabolic activity of cancer cell

○Kobayashi Y, Washio J, Shinohara Y, Takahashi N

Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

< Objective > The viability of cancer cells has been reported to be decreased by heating. We aimed to clarify if heating impairs the glucose-based metabolic activity of cancer cells, since cancer cells are known to obtain energy mainly from glucose-based metabolism.

< Methods > Human oral squamous cell carcinoma cells (HSC-2, HSC-3), human cervical carcinoma cells (HeLa) and human normal skin keratinization cell (HaCaT) were used. The glucose-based acid-producing activity at 37 and 43°C of these cells was evaluated using a real-time monitoring system for metabolism.

< Results and Discussion > The metabolic activity of these cells could be monitored with this system. The activity tended to be relatively higher at HSC-2 and HeLa than others. The activities at 43°C were lower by $7. \pm 46.6\%$ for HSC-2 and $4.9 \pm 5.4\%$ for HSC-3 than those at 37°C, and higher by $2.6 \pm 30.1\%$ for HeLa and $9.1 \pm 34.1\%$ for HaCaT. However, these changes were not statistically significant. These results suggest that the decrease of cancer cell viability by heating could be caused by not the suppression of glucose-based energy production but the other effects on cancer cells.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-20 ゼレドロン酸は IRF8 の発現誘導を介して末梢血単球の破骨細胞分化を抑制する

○瀧本 玲子¹, 田中 元博^{1,2}, 笹 清人², 山田 篤², 宮本 洋一², 須澤 徹夫², 吉村健太郎², 上條竜太郎²

¹昭大 歯 顎顔面口腔外科, ²昭大 歯 口腔生化

悪性腫瘍による高カルシウム血症や骨粗鬆症の治療に用いられるゼレドロン酸(ZOL)などの窒素含有ビスホスホネート製剤(NBP)は、骨に選択的に集積し破骨細胞の機能阻害およびアポトーシス誘導により骨吸収を抑制する。一方、NBP投与後1日から2日以内に発熱などの急性期反応が起こることが知られている。この急性期反応には、血液中の $\Gamma\delta$ T細胞の活性化を介した炎症性サイトカイン産生の亢進が関わりと考えられている。これは、NBPが、骨に集積する以前に、末梢血中の種々の細胞に直接作用することを示唆している。そこで今回、ZOLと反応させたヒト末梢血単核球(PBMC)の遺伝子発現を網羅的に解析したところ、インターフェロン- γ その他の炎症性サイトカインに加え、破骨細胞分化抑制性の転写因子であるIRF8の発現誘導が観察された。さらに、破骨細胞前駆細胞であるヒト単球(CD14⁺細胞)をPBMCから分離し、PBMC存在下にZOLで刺激したところ、CD14⁺細胞におけるIRF8遺伝子の発現が $\Gamma\delta$ T細胞依存的に上昇した。このことから我々は、血液中のCD14⁺細胞から破骨細胞への分化をZOLが抑制する可能性があると考えた。そこで、CD14⁺細胞をヒトPBMC存在下に破骨細胞分化誘導因子(RANKL)およびZOLで刺激したところ、ZOLはRANKL依存的なCD14⁺細胞の破骨細胞分化を抑制した。PBMCから $\Gamma\delta$ T細胞を除去すると、ZOLによる破骨細胞分化抑制は減弱した。さらに、CD14⁺細胞にIRF8のsiRNAを導入したところ、ZOLの破骨細胞分化抑制効果は低下した。以上より、これまで知られている骨における成熟破骨細胞の機能阻害およびアポトーシス誘導に加え、IRF8の発現を誘導を介した単球の破骨細胞分化阻害がZOLの骨吸収抑制作用の一部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。

Zoledronate inhibits differentiation of human CD14⁺ monocytes into osteoclasts by RANKL through up regulation of IRF8 expression

○Takimoto R¹, Tanaka M^{1,2}, Sasa K², Yamada A², Miyamoto Y², Suzawa T², Yoshikura K², Kamijo R²

¹Dept Oral and Maxillofac Surg, Showa Univ Sch Dent, ²Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent

Bisphosphonates accumulate in the bone and directly suppress bone-resorbing activity of osteoclasts. However, it is poorly understood if bisphosphonates affect the differentiation of osteoclasts. On the other hand, it is reported that nitrogen-containing bisphosphonates (NBPs) such as zoledronate induce acute-phase reactions including influenza-like fever within 2 days after administration in a $\Gamma\delta$ T cell-dependent fashion, indicating the activation of cells circulating in the blood by NBPs. Here, we found that zoledronate induced the mRNA expression of IRF8, an inhibitory factor for osteoclast differentiation, as well as that of inflammatory cytokines in human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) in vitro. Then, we examined the effects of zoledronate on differentiation of osteoclasts from human CD14⁺ cells, precursor cells of osteoclasts found in PBMCs. Zoledronate increased the expression of IRF8 mRNA in CD14⁺ cells in the presence of PBMCs. In addition, zoledronate inhibited RANKL-induced differentiation of CD14⁺ cells into osteoclasts in the presence of PBMCs. Either depletion of $\Gamma\delta$ T cells from PBMCs or introduction of IRF8 siRNA to CD14⁺ cells attenuated the suppressed differentiation of osteoclasts from CD14⁺ cells by zoledronate. These results indicate that zoledronate suppresses not only functions of mature osteoclasts but also differentiation of CD14⁺ cells into osteoclasts.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-21 Notch エフェクター分子 Hes1 の BMP9 誘導性骨芽細胞分化における発現機構および機能的意義の解明

○成 昌奂^{1,2}, 大西 智和², 千葉 紀香², 松口 徹也²

¹鹿大 院医歯 口腔顎顔面外科

²鹿大 院医歯 口腔生化

Elucidation of molecular mechanisms and functional roles of Notch signaling molecule Hes1 in BMP9-induced osteoblast differentiation

○Seong C^{1,2}, Ohnishi T², Chiba N², Matsuguchi T²

¹Dept Oral Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent

²Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent

Introduction: Bone morphogenetic proteins (BMPs) are expected to be applied to bone regeneration therapy. BMP9 is one of the most potent among the 14 BMP members in inducing osteogenic differentiation, but its mechanism of action has not been fully elucidated. Our laboratory has recently revealed that BMP9 increases the protein expression of Hes1 in osteoblasts. Hes1 is a transcriptional regulator with basic helix-loop-helix (bHLH) domain and is a well-known effector of Notch signaling. In this study, I investigate the molecular mechanisms of Hes1 induction by BMP9 in osteoblasts. Methods: A mouse osteoblast cell line, MC3T3-E1, was stimulated with recombinant mouse BMP9. Hes1 mRNA and protein expression levels were analyzed by real time PCR and Western blotting. Next, MC3T3-E1 cells were stimulated with BMP9 in the presence of various signal inhibitors and their effects on BMP9-induced Hes1 expression were examined. Furthermore, Hes1 expression was knocked-down by transfecting siRNA against Hes1 into osteoblasts before BMP9 stimulation. Results: Stimulation of osteoblasts with BMP9 induced periodic increases of mRNA and protein expression of Hes1. Among the signal inhibitors, pretreatment with SMAD inhibitor significantly inhibited the Hes1 expression in BMP9-stimulated osteoblasts. Notably, the expression of osteogenic differentiation markers was highly increased by Hes1 siRNA in BMP9-stimulated osteoblasts. Conclusion: BMP9 induces the expression of Hes1 in osteoblasts via the SMAD pathway which is known as the canonical signal of BMPs. It was also found that the BMP9-induced expression of Hes1 plays an important functional role in the intracellular signaling events in osteoblasts stimulated by BMP9.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-22 新規 NIK 阻害剤 Compound33 による破骨細胞分化・機能抑制効果の検討

○高倉 那奈^{1,2}, 松田 美穂¹, 日浦 史隆¹, 北村 知昭², 自見英治郎^{1,3}

¹九大 院歯 口腔細胞工学

²九歯大 保存

³九大 OBT 研究セ

骨粗鬆症や歯周炎では、破骨細胞形成が亢進し骨破壊がおこる。転写因子 NF- κ B (nuclear factor- κ B) は、炎症反応や免疫応答における遺伝子発現だけでなく、破骨細胞分化誘導因子 Receptor activator for NF- κ B ligand (RANKL) による破骨細胞形成を調節する。RANKL は、NF- κ B の古典的および非古典的経路の両方を活性化する。非古典的経路の活性化では NF- κ B inducing kinase (NIK) の活性化が重要であり、我々は、自然発症型 NIK の点変異を有する *aly/aly* マウスが p100 から p52 のプロセッシングが起きないことで、破骨細胞数の有意な減少を伴う大理石骨病を呈することを報告した。これらの結果から、NIK が破骨細胞形成を抑制するターゲットになりうると考え、新規 NIK 阻害剤 Compound33 (Cpd33) の骨吸収におよぼす効果を検討した。Cpd33 は、マウス骨髄細胞を用いた初代細胞培養系において、RANKL 刺激による p100 から p52 へのプロセッシングを阻害することによって、破骨細胞形成および破骨細胞分化マーカーの発現を用量依存的に抑制した。同様にマウス骨髄間質細胞株 ST2 細胞とマウス骨髄細胞の共存培養においても、ST2 細胞の RANKL 発現には影響せず、破骨細胞形成を抑制した。また成熟破骨細胞に Cpd33 を加えると破骨細胞数に影響せず、骨吸収を抑制した。Cpd33 は、閉経性骨粗鬆症モデルでも海綿骨の減少を抑制した。以上の結果より、NIK 阻害剤は過剰な骨吸収を伴う骨代謝疾患の治療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。

The inhibitory effect of a new NIK inhibitor on osteoclastic bone resorption

○Takakura N^{1,2}, Matsuda M¹, Hiura F¹, Kitamura C², Jimi E^{1,3}

¹Lab Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent

²Div Endodont Restor Dent, Kyushu Dent Univ

³Oral health Brain health Total health Res Cent, Kyushu Univ

In osteoporosis or periodontitis diseases, increased osteoclastogenesis induces bone destruction. Transcription factor NF- κ B regulates gene expression during inflammation and immune responses as well as receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)-induced osteoclastogenesis. RANKL activates both the canonical and the non-canonical NF- κ B signaling pathway. A lymphoplasia (*aly/aly*) mice, in which the processing of p100 to p52 does not occur because of an inactive form of NF- κ B-inducing kinase (NIK), showed mild osteopetrosis with significantly reduced osteoclast numbers. These results led us to focus on NIK for inhibiting osteoclastogenesis. Then we examined the effects of new NIK inhibitor, Compound33 (Cpd33) on RANKL-induced osteoclastogenesis in vitro and in vivo. Cpd33 suppressed RANKL-induced osteoclastogenesis from bone marrow (BM) cells and expression of osteoclastic differentiation markers in a dose-dependent manner by inhibiting the processing from p100 to p52. Cpd33 also suppressed osteoclastogenesis in the cocultures of ST2 cell, mouse bone marrow stromal cell line, with BM cells without affecting RANKL expression in ST2 cells. Cpd33 at 1 μ M inhibited osteoclastic bone resorption without affecting osteoclast number. Furthermore, Cpd33 suppressed cancellous bone loss in the ovariectomized mice model. These results suggest that Cpd33 are useful for the treatment for bone destruction.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-23 MAPK シグナル伝達経路を介した S-PRG フィラー抽出液由来の多機能イオンの評価

○石樽 大嗣¹, 川木 晴美², 上野 恭平², 清水翔二郎¹, 梅村 直己², 神谷 真子³,
高山 英次², 二階堂 徹¹, 堀田 正人⁴, 近藤 信夫²

¹朝日大 歯 保存

²朝日大 歯 口腔生化

³朝日大 営 化学

⁴朝日大

S-PRG (surface pre-reacted glass ionomer) フィラーは表面のガラスアイオノマー改質相からホウ酸イオンやストロンチウムイオン, フッ化物イオンなど種々のイオンを徐放することが知られている。我々は以前に S-PRG フィラーを蒸留水に浸漬して作製した抽出液を培地に添加し, ヒト歯髄幹細胞 (hDPSC) やヒト骨髄由来幹細胞 (hBMSC) の増殖促進効果やアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性が増強されることを本学会で報告してきた。本研究では, これらの効果がフィラーから溶出するいずれのイオンによるものなのかを, ホウ酸イオンおよびストロンチウムイオンに注目して, その機能を細胞培養系で評価した。ホウ酸および塩化ストロンチウムを種々の濃度の組合せで培地に添加し, hDPSC の増殖および ALP 活性を評価した結果, ホウ素が 2~5 ppm, ストロンチウムが 10~20 ppm に調整した培地で hDPSC の増殖が促進され, それとは異なる濃度の組合せで ALP 活性が増強されたが, 一方のみの添加では増殖促進や ALP 活性上昇はみられなかった。さらに, 細胞増殖促進および ALP 活性上昇のメカニズムを明らかにするために, mitogen-activated protein kinase (MAPK) 経路の関与についての評価を行ったところ, 細胞増殖促進, ALP 活性上昇がみられた培地条件で, ERK1/2 および p38 MAPK のリン酸化が増強されていた。以上の結果から, 至適濃度のホウ酸イオンおよびストロンチウムイオンの組合せが hDPSC の増殖促進や ALP 活性を増強に寄与しており, それには ERK1/2 や p38MAPK 経路が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。

Effects of multiple ions derived from S-PRG fillers mediated by some of MAPK signaling pathways

○Ishigure H¹, Kawaki H², Ueno K², Shimizu S¹, Umemura N², Kamiya M³, Takayama E²,
Nikaido T¹, Hotta M⁴, Kondoh N²

¹Dept Oper Dent, Asahi Univ Sch Dent

²Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent

³Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin

⁴Asahi Univ

The surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) filler is known to slowly release various ions such as borate ion, strontium ion and fluoride ion from the surface of the fillers. In this study, we evaluated the effects of these ions on the human dental pulp stem cell (hDPSC) activities focused on the borate ion and strontium ion. As a result, the growth and ALP activity of hDPSCs was significantly increased in the medium containing a certain amount of borate and strontium ions. Phosphorylation of some of MAPKs was enhanced in this culture medium. The hDPSC proliferation is significantly increased in the medium containing optimal amounts of borate and strontium ions, and the cell growth promoting effect of slow release ion derived from S-PRG filler and the increase of ALP activity are mediated by ERK1/2 and p38 MAPK pathway was suggested.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-24 ブラジル産グリーンプロポリス抽出液がヒト初代培養細胞の動態におよぼす作用の解析

○鶴田はねみ¹, 川木 晴美², 池野久美子³, 中村源次郎³, 梅村 直己², 神谷 真子⁴,
高山 英次², 二階堂 徹¹, 堀田 正人⁵, 近藤 信夫²

¹朝日大 歯 保存, ²朝日大 歯 口腔生化, ³株式会社秋田屋本店

⁴朝日大 営 化学, ⁵朝日大

プロポリスはミツバチが植物から採取した新芽や樹液にハチ自身の分泌液を混合した樹脂状の物質で、抗菌活性をもつ物質として知られている。ブラジル産グリーンプロポリスは炎症、悪性腫瘍、肥満に対する抑制効果が報告されている。その有効成分として、ポリフェノールの1種であるアルテピリンCがある。本研究では抗菌作用に着目し、プロポリスをエタノールに浸漬して得た抽出液を歯科材料へ応用することを目的とし、ヒト由来の細胞には毒性を示さず抗菌性を得られる条件を検討した。まず、異なるロットのグリーンプロポリス粉末を用い、エタノールに浸漬し成分を抽出した。このプロポリス抽出液を1/200から1/4000まで細胞培養用培地(D-MEM)で希釈して作製した培地を用いてヒト骨髄由来間葉系幹細胞(hBMSC)、ヒト歯髄由来幹細胞(hDPSC)を培養した。さらに、プロポリス抽出液をエタノールで1/100から1/300倍まで希釈し、培養プレートにコーティングしたものでも培養を行い評価した。また、アルテピリンCの培養細胞に対する作用の評価も行った。プロポリス抽出液を含む培地を用いてhBMSCの増殖とアルカリフォスファターゼ(ALP)活性変化を評価したところ、1/1000から1/3000に希釈した培地で、培養48時間後に増殖促進効果が見られ、培養7日後にはALP活性も上昇していた。また、プロポリス抽出液でコーティングしたプレートで2種の幹細胞の増殖評価を同様に行ったところ、hBMSCは1/250から1/300希釈液、hDPSCは1/100希釈液でコーティングしたプレートで増殖が促進されていた。以上の2種の細胞動態を比較した結果、hDPSC、hBMSCの増殖促進効果を示すプロポリス抽出液の至適濃度が存在し、hDPSCに対する細胞増殖促進作用から、直接あるいは間接覆髄剤への応用の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。

Evaluation of ethanol extract of Brazilian Green Propolis on the human primary cell activities

○Tsuruta H¹, Kawaki H², Ikeno K³, Nakamura G³, Umemura N², Kamiya M⁴, Takayama E²,
Nikaidoh T¹, Hotta M⁵, Kondoh N²

¹Dept Oper Dent, Asahi Univ Sch Dent, ²Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent

³AKITAYAHONTEN CO., LTD., ⁴Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin

⁵Asahi Univ

Propolis is a resinous mixture substance that is produced by honey bees used as a coating to build their hives. This is known to have antibacterial and antitumor activities. Brazilian green propolis has been reported to suppress inflammation, malignancy and obesity. In this study, we focused on the antibacterial action and evaluate the effects of propolis extract on the activities of the human primary cells for the application of this extract to dental materials. As a result, propolis extract promoted the proliferation and alkaline phosphatase activity of human dental pulp stem cells and bone marrow derived stem cells. Our results suggested the possibility of propolis extract for the application to direct or indirect dental pulp capping agents.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-25 ゼオライトによる陽イオン交換後の S-PRG フィラー抽出液の評価

○上野 恭平¹, 川木 晴美¹, 巽 勇介², 井殿 泰鳳², 梅村 直己¹, 神谷 真子³,
高山 英次¹, 二階堂 徹², 堀田 正人⁴, 近藤 信夫¹

¹朝日大 歯 口腔生化, ²朝日大 歯 保存, ³朝日大 営 化学, ⁴朝日大

S-PRG (surface pre-reacted glass ionomer) フィラーは、表層から、表面改質層、ガラスアイオノマー相、ガラスコア層の3層からなり、表面改質層から種々のイオン (Na^+ , Sr^{2+} , Al^{3+} , F^- , SiO_3^{2-} , BO_3^{3-}) を徐放する特性をもつ。我々は S-PRG 抽出液を含む培地が種々の細胞の増殖を促進することを見出しているが、この作用はフィラーから徐放される複数のイオンの組合せに影響されたと考えている。また、ゼオライトは多孔質の結晶性アルミノケイ酸塩であり、その特異的な骨格構造のために高い吸着能、イオン交換能をもち、従来より吸着剤やイオン交換材として利用されている。本研究では、S-PRG フィラーの作用機序解明の一助として、S-PRG フィラー抽出液に陽イオン交換能の異なるゼオライト (A 型, X 型, Y 型) ペレットを浸漬し、異なるイオン組成の S-PRG フィラー抽出液を調製した。そして、その抽出液を含む培地を作製し、ヒト歯髄由来細胞 (hDPSC) の増殖を評価した。

種々のゼオライトを用いて、S-PRG 抽出液のイオン交換を行ったところ、ゼオライト骨格内に存在するカチオンは放出され、用いたゼオライト種によらず S-PRG 抽出液中の上記 6 種のイオンの中で Sr^{2+} が選択的に除去された。次に、イオン交換後の抽出液を含む培地を用いて hDPSC の増殖を評価したところ、その増殖が有意に抑制され、イオン交換前の S-PRG フィラー抽出液と比較して、hDPSC の増殖促進効果が減弱することがわかった。S-PRG フィラー由来のイオンを含む培地は hDPSC の増殖を促進するが、ゼオライトを用いて Sr^{2+} が選択的に除去された場合、その増殖効果が減弱したことから、S-PRG フィラー由来の Sr^{2+} が細胞増殖に寄与していることが示唆された。さらに、S-PRG フィラーのような多様なイオンを徐放する材料の評価にゼオライトが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。

Evaluation of S-PRG filler eluate after cation-exchange using zeolite pellet

○Ueno K¹, Kawaki H¹, Tatsumi Y², Idono T², Umemura N¹, Kamiya M³, Takayama E¹,
Nikaido T², Hotta M⁴, Kondoh N¹

¹Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, ²Dept Oper Dent, Asahi Univ Sch Dent, ³Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin, ⁴Asahi Univ

Surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) filler has been developed and used as part of the several dental materials such as adhesive, restorative, and coating materials. S-PRG filler has been reported that it have various ion (Na^+ , Sr^{2+} , Al^{3+} , F^- , SiO_3^{2-} , and BO_3^{3-}) releasing abilities. We have reported that the S-PRG filler eluate containing the multiple ions promoted the hDPSC proliferation at previous meeting. It was suggested that multiple ions were involved in this promotion of cell proliferation effect. Therefore, we performed ion-exchange to remove the specific ions from the eluate by using zeolites. Zeolites are crystalline aluminosilicates, which have unique physical and chemical properties derived from its specific framework structure, and exhibit high adsorption capacity and ion exchange capacity.

In this study, for the evaluation of the multiple ions derived from the S-PRG fillers, several types of the zeolites were immersed in the S-PRG filler eluate, and ion-exchange of S-PRG filler eluates extract were performed. The eluates after cation-exchange in which Sr^{2+} was selectivity removed were evaluated in the human primary cell culture system.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-26 デクスメトミジンが成体ラットの呼吸循環動態に与える影響について

○北島躍一郎, 佐伯 周子, 橋爪 那奈, 井出 良治, 永倉由加里, 今井 敏夫

日歯大 生命歯 生理

【緒言】デクスメトミジン (Dexmedetomidine, 以下 DEX) は α_2 アドレナリン受容体とイミダゾリン 1 受容体に高い親和性を持つ鎮静薬である。DEX は循環への抑制効果に比べて呼吸への抑制効果は少ないとされるが、その機序は未だ不明である。本研究では成体ラットを用い、異なる濃度の DEX を静脈内投与し、呼吸循環動態に与える影響を詳細に検討した。

【材料と方法】成体 Wistar ラット (オス, 249~301g, n=19) を供した。前処置としてイソフルラン麻酔下で尾動脈にカテーテルを挿入し、ケージに戻した。3 時間後、金網ケージで緩く拘束したラットを測定用チャンバーに移し、無作為に三群に分けた。各々、生理食塩水 (NS 群, n=4), 5 μ g/kg DEX (Low 群, n=8), あるいは 50 μ g/kg DEX (High 群, n=7) を静脈内に投与し、呼吸 (呼吸数, f_R ; 一回換気量, V_T ; 平均吸気流量, V_T/T_I ; 分時換気量, V_E), 循環 (心拍数, HR; 平均血圧, MBP), および動脈血液ガス (PO_2 , PCO_2 , pH) を測定した。

【結果】 f_R と V_E の低下および V_T の増加は NS 群と比べ DEX 投与 2 群で有意であり、この傾向は High 群で顕著だった。 V_T/T_I は DEX 投与 2 群とも変化は見られなかった。 PO_2 は DEX 投与 2 群とも低下したが、有意な PCO_2 上昇と pH 低下は High 群のみだった。 HR は DEX 投与 2 群とも低下し、High 群で顕著だった。 DEX 投与後の MBP は、Low 群では一時的な上昇の後に低下へと転じたが、High 群では高い値が維持された。

【考察】高濃度 DEX の投与は低濃度と比較して呼吸と循環の間に paradoxical な効果 (低換気, 徐脈と高血圧) をもたらすことが新たに示された。これらは DEX の過量投与が呼吸循環障害を引き起こす可能性を示唆しており、さらなる作用機序の解明が急務である。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effect of dexmedetomidine on cardiorespiratory dynamics in adult rats

○Kitajima Y, Saiki C, Hashizume N, Ide R, Nagakura Y, Imai T

Dept Physiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

< Introduction > Dexmedetomidine (DEX) is a sedative drug known to have depressive effect on respiration less apparent than that of circulation. In this study, we administrated DEX and examined changes in the cardiorespiratory dynamics in adult rats.

< Materials and methods > Adult Wistar rats (n = 19) had been received cannulation in the tail artery and vein under isoflurane anesthesia. After recovery, they were divided into three groups and administrated one of the three drugs; vehicle (normal saline, NS group), 5 μ g/kg DEX (Low group), and 50 μ g/kg DEX (High group), and measured respiratory rate (f_R), tidal volume (V_T), mean inspiratory flow (V_T/T_I), minute ventilation (V_E), heart rate (HR), mean blood pressure (MBP), and arterial blood gases (PaO₂, PaCO₂, and pH).

< Results > Compared to NS group, Low and High groups decreased f_R and V_E with a significant increase in V_T without changes in V_T/T_I . PaO₂ decreased in both groups, but increase in PaCO₂ and decrease in pH were significant only in High group. HR decreased in both groups. MBP decreased after transient rise in Low group, and remained elevated in High group.

< Conclusion > In conclusion, DEX overload can cause paradoxical changes (i.e. hypoventilation, bradycardia, and hypertension) and disrupt the cardiorespiratory cooperation.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-27 ヒノキチオールによる TRP チャンネル活性化を介した Ca²⁺応答

○岡本 浩明¹, 梶田 恵介¹, 矢野 博子²

¹小林製薬 ヘルスケア事業 研究開発

²小林製薬 中央研 基盤研究

【目的】 β -thujaplicin (ヒノキチオール)は、シダーやヒバ等に含まれる不飽和七員環化合物であり、歯周疾患の原因となる細菌に対する抗菌作用や、組織収斂作用を示す有効成分として医薬部外品歯磨剤や医薬品といったオーラルケア製品に配合される。近年、TRP チャンネルの口腔組織での発現やその生理作用について報告がされており、TRP チャンネルをターゲットとした口腔疾患への治療への活用が期待されている。本研究では、ヒノキチオールの TRP チャンネル活性について検討した。

【方法】 ヒト由来の各種 TRP 遺伝子を用い、HEK293 細胞に強制発現させた細胞を用いて評価した。細胞内 Ca²⁺濃度変化は、Fura 2-AM で標識した細胞の蛍光画像を 2 波長励起蛍光顕微鏡で取得し、F340/F380 比として測定した。また、電気生理学的解析には、ホールセルパッチクランプ法を適用して測定した。

【結果と考察】 TRPM8 発現細胞について、ヒノキチオールは細胞内 Ca²⁺濃度の増加及び電気生理学的変動を示した。TRPV1 発現細胞においては、ヒノキチオール添加により細胞内 Ca²⁺濃度変化は見られたが、チャンネルに対して直接的な作用ではない為か、電気生理学的変動は観察されなかった。また、TRPV3 及び TRPV4 発現細胞においては、ヒノキチオールによる細胞内 Ca²⁺濃度の目立った変化は見られなかった。以上より、ヒノキチオールは、TRPM8 を介した Ca²⁺流入を惹起する可能性が示唆された。

(学会外共同研究者) 森 誠之 森 泰生 (京大 工)

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Hinokitiol induces Ca²⁺-response through TRP channels activation

○Okamoto H¹, Kajita K¹, Yano H²

¹R&D Dept, Helthcare Div, KOBAYASHI Pharmaceut Co., Ltd

²Core Technol Res Dept, Central R&D Lab, KOBAYASHI Pharmaceutl Co., Ltd

Hinokitiol (β -thujaplicin) is contained in oral care products, such as quasi-drug toothpastes and drug medicine, as an active ingredient by the effect of its antibacterial activity on bacteria that can cause periodontal diseases and also for its astringent activity. Recent reports have also described the expression of TRP channels in oral tissues and their physiological effects. Therefore, this study examined the effect of hinokitiol on TRP channel activity.

Measurements were made by the calcium imaging method and whole-cell patch-clamp recording on HEK293 cells transfected with human TRP channels genes.

In TRPM8-expressing cells, hinokitiol produced increases in intracellular Ca²⁺ concentration and electrophysiological changes. In TRPV1-expressing cells, treatment with hinokitiol induced changes in intracellular Ca²⁺ concentration, but no electrophysiological changes were observed. TRPV3-or TRPV4-expressing cells showed no remarkable changes in intracellular Ca²⁺ concentration associated with hinokitiol. These results suggest that hinokitiol might activate TRPM8.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-28 セメント芽細胞における Ca^{2+} 活性化 K^+ チャンネル発現

○鎌田 聡仁^{1,2}, 東川明日香², 木村 麻記², 井上 博之³, 大山 定男², 大房 航²,
澁川 義幸², 山下秀一郎¹

¹東歯大 パーシャル補綴, ²東歯大 生理, ³東歯大 麻酔

【目的】セメント芽細胞は硬組織形成細胞であり、根部セメント質を形成する。細胞膜を介するイオン移動に伴う細胞膜シグナル伝達は、多くの細胞過程を調節しているにもかかわらず、ヒトセメント芽細胞のイオンチャンネル発現についての報告はない。そこで、ヒト由来セメント芽細胞から細胞膜イオン電流記録を行い、電位依存性イオンチャンネル発現を検討した。【方法】セメント芽細胞 (HCEM) に whole-cell patch-clamp 法を用いて、全細胞膜イオンチャンネル電流を計測した。標準細胞外液 (標準 ECS) は Krebs 溶液とした。標準細胞内液 (標準 ICS) として、140 mM KCl, 10 mM NaCl, 10 mM HEPES (pH7.2) の溶液を用いた。標準 ICS の K^+ を等モル濃度で Cs^+ に置換した細胞内液 (Cs -ICS) および標準 ECS/ICS から K^+ と Cl^- を等モル濃度で Cs^+ と gluconate⁻ にそれぞれ置換した溶液 (Cs -gluc-ECS/ICS) を作成した。また、試薬として非選択的 K^+ チャンネルブロッカーである TEA および Ca^{2+} 活性化 K^+ チャンネルブロッカーである IbTX, apamin を使用した。【結果と考察】標準 ECS/ICS 下で保持電位 (V_h)-70 mV から 10 mV ごとに電位変化を与えたところ、外向き電流が記録された。 Cs -ICS 下で同様の脱分極刺激を行ったところ、外向き電流はほぼ消失した。ECS/ICS 下で TEA を投与 (10 mM) すると、外向き電流の電流密度 (pA/pF) が可逆的に減少した。同様に IbTX を投与 (0.1 μM) すると、外向き電流の電流密度が可逆的に減少した。しかし、apamin の投与 (500 μM) では、外向き電流の電流密度の減少はみられなかった。このことから HCEM には Ca^{2+} 活性化 K^+ チャンネルが発現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。

Expression of Ca^{2+} - activated K^+ channels in human cementoblast

○Kamata S^{1,2}, Higashikawa A², Kimura M², Inoue H³, Oyama S², Ofusa W², Shibukawa Y², Yamashita S¹

¹Dept Removable Partial Prosthodont, Tokyo Dent Coll, ²Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, ³Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll

< purpose > Cementoblasts are cementum forming cells. Although transmembrane signaling associated with ionic transport regulates various physiological processes of the cells, there is no report on the expression of ionic channels in human cementoblasts. The present study investigated functional expression of ionic channels in human cementoblast cell line (HCEM) by recording membrane currents. < Materials & Methods > We measured ionic currents using whole-cell patch-clamp recording. Krebs solution was used as a standard extracellular solution (ECS). Standard intracellular solution (ICS) was composed followings (in mM); 140KCl, 10NaCl and 10HEPES. we prepared solution by equimolarly replacing K^+ in the ICS with Cs^+ (Cs -ICS). As reagents, non-selective K^+ channel blocker TEA and Ca^{2+} activated K^+ channel blocker IbTX, apamin were used. < Results & Conclusion > Depolarizing steps from holding potential (V_h) of -70 mV with 10 mV intendments evoked outward currents under the ECS/ICS condition. When the same depolarization stimulation was performed under the Cs -ICS, the outward current almost disappeared. When TEA and IbTX were administered under the ECS/ICS, the current density of the outward current reversibly decreased. However, apamin administration, the current density of the outward current did not decrease. This suggests HCEM expresses Ca^{2+} activated K^+ channel.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-29 トラネキサム酸による悪心誘発機序における最後野の役割

○藤田 麻由, 平井 喜幸, 久留 和成, 船橋 誠

北大 院歯 口腔生理

【目的】トラネキサム酸 (TXA) は動物の誤飲時の催吐薬として使用されるが, TXA の悪心・嘔吐の誘発機序については不明な点が残されている. そこで本研究はトラネキサム酸投与により生じる悪心の誘発機序における最後野の役割について検討を行った. 【方法】実験動物としてSD系雄性ラット (7~8 週齢) を用い, TXA により誘発される悪心 (内蔵不快感) を無条件刺激とし, 甘味刺激 (0.1% サッカリンナトリウム溶液) に対する条件付けを行い, サッカリンの甘味に対する条件付け味覚嫌悪 (CTA) の解析を行った. 一部のラットには横隔膜下両側迷走神経切除術 (VX) または最後野切除術 (APX) を行ない対照群と比較した. CTA の測定は1ボトル法で行った. 最初の7日間は飲水トレーニング期間とし, 1日あたり20時間の絶水後20分間の自由飲水, その後40分間の絶水につづき3時間の自由飲水をさせるプロトコールを実行した. トレーニング期間が終了した翌日から絶水サイクルを維持したまま, 条件刺激として0.1% サッカリン溶液, 無条件刺激としてTXA (1.5g/kg) を腹腔内投与して条件付けを行ない, 以後6日間におけるサッカリン摂取量を測定した. 条件付け日のサッカリン摂取量と1日の回復日後6日間のサッカリン摂取量を比較した. 統計学的手法としてDunnett法を用い, $p < 0.05$ を有意差ありと判定した. 【結果】CTA測定日のサッカリン摂取量は条件付け日と比較して対照群 ($n=6$) では測定日1日目と2日目において有意な減少を認めた. 一方, VX群 ($n=6$) ではサッカリン摂取量の有意な減少を認めたのは測定日1日目のみであった. APX群 ($n=2$) では測定日におけるサッカリン摂取量は殆ど減少しなかった. 以上の結果からTXAの悪心吐誘発には最後野と迷走神経を介した情報が関与しており, 最後野を介する情報の方がより強く悪心誘発に関わ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.

The role of the area postrema in the mechanism of tranexamic acid-induced nausea

○Fujita M, Hirai Y, Hisadome K, Funahashi M

Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Med Dent

Although tranexamic acid (TXA) is used as an emetic drug in case of animal's accidental ingestion, the mechanisms involved in emetic action of TXA remain to be determined. The present study focused on the role of the area postrema (AP) in the mechanism of TXA-induced nausea. We measured conditioned taste aversion (CTA) in male Sprague Dawley rats. Some rats received the subdiaphragmatic vagotomy (VX), and the area postrema excision (APX). Saccharin was the conditioned stimulus, and nausea induced by TXA (1.5g/kg, i. p.) was unconditioned stimulus. CTA was measured by 1 bottle test after training period of scheduled drinking, i.e. test drinking for 20 min, free drinking for 3 h, and 20h 40 min water deprivation every day. Saccharin intake significantly decreased on the first and second day of measurement in the control group ($n=6$) as compared to the conditioning day. In the VX group ($n=6$), saccharin intake significantly decreased on the first day of measurement but not the second day. In the APX group ($n=2$), no marked decrease was observed in saccharin intake. These results suggested that information via the AP have more impact on the mechanism of TXA-induced nausea than that of vagal afferents.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-30 慢性間歇的低酸素負荷によるラット口腔顔面領域における体性感覚の変調

○岸本 沙樹^{1,2}, 片桐 綾乃², 大山口藍子¹, 丹羽 均¹, 加藤 隆史²

¹阪大 院歯 麻酔

²阪大 院歯 口腔生理

【緒言】睡眠時の間歇的低酸素状態が、体性感覚を変調することは報告されているが、詳細な神経学的メカニズムは不明である。本研究では、明期の慢性間歇的低酸素負荷 (chronic intermittent hypoxia: CIH) がラットの口腔顔面領域の感覚閾値や神経応答を変調させるかを検討した。【方法】SD 雄性ラットに、8日間または16日間のCIH (酸素濃度21%-5%, 3分周期, 明期14:00-20:00) を施した。16日間のCIH (16d-CIH) 群と、8日間のCIH後に8日の負荷無し期間を設けた(8d-CIH) 群を用いた。口腔内の感覚は、2瓶法によるカプサイシン含有水に対する嫌悪反応を観察した。角膜の感覚は、機械刺激または高張食塩水刺激を与え、瞬目回数を測定した。口髭部皮膚には機械刺激を与え、逃避閾値を測定した。さらに、三叉神経脊髄路核～上部頸髄でのcFos陽性細胞の発現様式を解析した。【結果】両群ともに、間歇的低酸素負荷7日目より、カプサイシン含有水に対する嫌悪反応が認められ、間歇的低酸素負荷4日目より、角膜刺激に対する瞬目回数は刺激強度依存性に増加した。これらの反応は、間歇的低酸素負荷期間中は継続した。8d-CIH群では、負荷終了後から早期に上記の反応が低下し、負荷前の状態に回復した。口髭部皮膚への機械刺激に対する閾値は、両群ともに間歇的低酸素負荷による変化を認めなかった。また、間歇的低酸素負荷により、三叉神経脊髄路核中間亜核・尾側亜核移行部において、cFos陽性細胞数が有意に増加した。【考察】慢性的な明期の間歇的低酸素負荷は、三叉神経脊髄路核中間亜核・尾側亜核移行部のcFos発現変化を伴う、感覚閾値の低下を惹起した。また、これらの変化は可逆的である可能性も示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Changes in orofacial somatosensory sensitivity induced by chronic intermittent hypoxia in rats

○Kishimoto S^{1,2}, Katagiri A², Oyamaguchi A¹, Niwa H¹, Kato T²

¹Dept Dent Anesth, Osaka Univ Grad Sch Dent

²Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Purpose: The present study was designed to investigate the effects of chronic intermittent hypoxia (CIH) on orofacial somatosensory sensitivity. Methods: Two groups of male Sprague-Dawley rats were exposed to chronic intermittent hypoxia (CIH) (O₂:21% to 5%, 3 min cycles, 14:00-20:00 light phase) : one for 16 days (16d-CIH) and another for 8 days following by 8 days normoxia (8d-CIH). Intraoral sensitivity to capsaicin, ocular sensitivity to mechanical and hypertonic saline stimuli, and whisker pad sensitivity to mechanical stimuli were assessed. The expression of cFos was analyzed from trigeminal spinal subnucleus interpolaris to upper cervical spinal cord at 16 days. Results: For both groups, increase in intraoral sensitivity and that of ocular sensitivity started at day 7 and day 4. These changes continued for 16 days in 16d-CIH rats. In 8d-CIH rats, intraoral and ocular sensitivity were recovered to baseline level after the expiration of CIH. No significant change was observed for the whisker pad sensitivity in two groups. The number of cFos positive cells in the trigeminal spinal subnucleus interpolaris/caudalis transition (Vi/Vc) was significantly increased in 16d-CIH rats. Conclusions: CIH induced reversible increased of intraoral and ocular sensitivity in relation to the cFos expression in Vi/Vc.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-31 嚥下関連筋支配神経の活動に対するイミダプリルの効果

○守谷 崇^{1,2}, 中山希世美¹, 中村 史朗¹, 望月 文子¹, 壇辻 昌典¹, 井上 富雄¹

¹昭大 歯 口腔生理

²昭大 歯 口腔外科

ドーパミンおよびサブスタンス P の濃度を上昇させる薬理物質が誤嚥性肺炎を予防し、嚥下障害を改善することが示唆されてきた。しかしながら、咽頭および喉頭の筋を支配する運動神経における嚥下活動に、そのような薬剤が効果を示すかどうかは明らかではない。本研究では、嚥下障害の改善に効果が期待されているイミダプリルが、嚥下関連筋支配神経の活動に及ぼす影響について検討した。生後 21–35 日齢の除脳動脈灌流ラットを用いて、頸部迷走神経の嚥下様神経活動を評価した。嚥下様神経活動は、口腔への 1.25 ml の蒸留水の注入、もしくは、上喉頭神経の電気刺激によって誘発した。灌流液へのイミダプリル (60 ng/ml) の投与は、注水により誘発された嚥下様神経活動の振幅を有意に増加させた。このような嚥下様神経活動の振幅の増加は、嚥下機能の改善が期待されている他の薬剤であるシロスタゾール (2.5 μg/ml) やアマンタジン (200 ng/ml) の投与では起こらなかった。また、イミダプリルによる嚥下様神経活動の振幅の増加は、NK1 受容体拮抗薬アプレピタント (5 μg/ml) または D1 受容体拮抗薬 LE300 (2.5 μg/ml) の投与によって阻害された。一方で、イミダプリルは、上喉頭神経の電気刺激によって引き起こされた嚥下様神経活動には有意な増加を引き起こさなかった。これらの結果は、イミダプリルが、サブスタンス P およびドーパミン濃度の増加を介して咽頭筋活動を増強することによって嚥下障害を改善する可能性が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。

Effects of imidapril on swallowing motor activity in nerves innervating infrahyoid and laryngeal muscles

○Moriya T^{1,2}, Nakayama K¹, Nakamura S¹, Mochizuki A¹, Dantsuji M¹, Inoue T¹

¹Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent

²Dept Maxillofac Oral Surg, Showa Univ Sch Dent

Pharmacological agents that elevate dopamine and substance P concentrations have been suggested to prevent aspiration pneumonia and improve impaired swallowing processes. However, little is known about the effects of such agents on swallowing activity induced in motor nerves innervating the pharyngeal and laryngeal muscles. In this study, we examined the effects of imidapril, which is often prescribed for swallowing disorders, on swallowing motor activity. We evaluated swallowing motor activity in the cervical vagal nerve using arterially perfused rats aged between 21–35 postnatal days. Swallowing motor activity was evoked by injection of 1.25 ml of distilled water into the oral cavity or electrical stimulation of the superior laryngeal nerve (SLN). Administration of imidapril (60 ng/ml) to the perfusate increased the mean peak amplitude of orally evoked swallowing bursts. Such increase in the peak amplitude by imidapril was antagonized by the administration of the NK1 receptor antagonist aprepitant (5 μg/ml) or the D1 receptor antagonist LE300 (2.5 μg/ml). In contrast, imidapril did not cause a significant increase in swallowing bursts evoked by electrical stimulation of the SLN. These results suggest that imidapril treatment may improve impaired swallowing by enhancing pharyngeal muscle activities via an increase in substance P and dopamine concentrations.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-32 ラット線条体へのドパミン受容体拮抗薬投与が嚥下反射誘発に及ぼす影響

○辻 光順, 高橋 睦, 佐藤 義英

日歯大新潟 生理

【目的】線条体被殻部の出血やパーキンソン病は高頻度で嚥下障害を伴うことから、大脳基底核障害と嚥下障害の間に強い関連があることは疑いがない。しかし、その詳しいメカニズムは全く分かっておらず、大脳基底核内の神経核や神経経路と嚥下機能との関連性についても不明である。そこで本研究では、ラット線条体部へのドパミン受容体拮抗薬の微量注入が、上喉頭神経(SLN)刺激誘発嚥下に及ぼす影響について検討した。【方法】実験にはウレタン麻酔下のSD系雄性ラットを用いた。左側甲状舌骨筋および顎舌骨筋から筋電図を導出し、嚥下の指標とした。嚥下は、SLN連続電気刺激(0.2 ms duration, 30 Hz, 10 s)により誘発した。両側線条体中央部に薬液注入用のカニューレを留置し、マイクロシリンジポンプを用いて、ドパミンD1受容体拮抗薬Sch-23390 (5 μ g/ μ l)とD2受容体拮抗薬domperidone (5 μ g/ μ l)の同時微量注入(2 μ l, 90秒)を行った。投与前および投与直後から90分後まで10分毎にSLN刺激を行い、誘発嚥下回数および嚥下開始時間を計測し、経時的な変化について検討した。実験後には、脳切片を作製し、薬液の注入部位を組織学的に確認した。【結果】SLN刺激誘発嚥下回数は、線条体へのドパミン受容体拮抗薬投与前と比較して、投与30分後に有意に減少し、投与90分後には投与前と同程度の回復が見られた。嚥下開始時間は、統計的に有意な差は認められなかった。【結論】大脳基底核の直接路、または間接路が嚥下反射誘発に関与し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 administration of dopamine receptor antagonists to the striatum on induction of swallowing reflex in the rat

○Tsuji K, Takahashi M, Satoh Y

Dept Physiol, Nippon Dent Univ at Niigata

The aim of this study was to determine if administration of dopamine receptor antagonists to rat striatum had effects on swallowing reflex. These experiments were performed on rats anesthetized by urethane (1.3 g/kg, i. p.). Electromyograms were recorded from the mylohyoid and thyrohyoid muscles to identify swallowing event. The swallowing reflex was evoked by repetitive electrical stimulation (0.2 ms duration, 30 Hz) of the right superior laryngeal nerve (SLN). The dopamine D1 receptor antagonist Sch-23390 (5 μ g/ μ l) and the D2 receptor antagonist domperidone (5 μ g/ μ l) were microinjected (2 μ l, 90 seconds) into the central part of the striatum. The administration of dopamine receptor antagonists to rat striatum had inhibitory effects on the number of swallows. The onset latency of the first swallow was not significantly difference between before and after dopamine receptor antagonist administration. These results suggested that the direct or indirect pathways of the basal ganglia may be involved in induction of the swallowing reflex.

Conflict of Interest: The author declares no conflict of interests.

P1-33 新生児期外傷性ストレスに起因する成体期外傷性疼痛の増強には CCL2 ケモカインが関与する

○相馬 久実^{1,2}, 篠田 雅路², 白川 哲夫¹, 岩田 幸一²

¹日大 歯 小児歯, ²日大 歯 生理

口髭部皮膚切開による新生児期外傷性ストレスに起因する成体期外傷性疼痛増強の発症機構を明らかにするため、三叉神経節 (TG)ニューロンにおけるケモカインリガンド 2(CCL2)シグナルおよび TTX 耐性電位依存性 Na チャネル (Nav1.8)の機能連関に着目し、その神経機構の解明を試みた。

生後 4 日の雄性 SD ラットの口髭部皮膚を切開縫合し 7 週目に同部位に再切開を施した再切開 (RI) 群, 7 週目に切開を加えた成体期切開 (AI) 群, 縫合のみを行った sham 群を用いた。RI 後 10 日目以降, AI 群と比較し RI 群で輻射熱・機械逃避閾値 (H-MHWT) の有意な低下の亢進を認めた。また, RI 後 14 日目に Nav1.8 阻害薬を RI 部皮下へ投与した結果, MHWT 低下の亢進が濃度依存的に抑制された。次に, 口髭部投射 TG ニューロンにおける Nav 1.8, ケモカイン受容体 2(CCR2)発現, CCL2 陽性マクロファージおよびサテライトグリア細胞発現を免疫組織化学的に解析した結果, 口髭部投射 Nav 1.8 陽性 TG ニューロン数が有意に増加し, 口髭部投射 TG ニューロンでの Nav1.8 と CCR2 の共発現, CCL2 陽性マクロファージおよびサテライトグリア細胞の発現を認めた。また, CCR2 拮抗薬の連日 RI 部皮下および TG 内投与は, MHWT 低下の亢進を抑制した。さらに, RI 後 14 日目において RI 群で CCL2 タンパク量の有意な増加を認めた。最後に, AI 群に対して CCL2 を切開部皮下へ連日投与により, MHWT の有意な低下の亢進を認めた。以上より, 新生児期外傷性ストレスに起因する成体期外傷性疼痛の増強には, 口髭部投射 TG ニューロンでの CCL2 シグナルを介した Nav 1.8 の発現増加による一次侵害受容ニューロンの興奮性増大の関与が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Enhancement of CCL2 signaling due to neonatal traumatic stress is involved in adult traumatic hypersensitivity

○Soma K^{1,2}, Shinoda M², Shirakawa T¹, Iwata K²

¹Dept Pediatr Dent, Nihon Univ Sch Dent, ²Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

We examined the involvement of tetrodotoxin-resistant voltage-gated sodium channel (Nav 1.8) in trigeminal ganglion (TG) neurons in orofacial pain hypersensitivity induced by neonatal injury. Whisker pad skin was incised on neonatal day 4 (P4) (neonatal traumatic stress), and the whisker pad skin was incised again on week 7. On day 14 following re-incision, mechanical allodynia was further enhanced, and the increase in the number of Nav 1.8-positive TG neurons was also increased. Administration of Nav 1.8 blocker and CC chemokine receptor 2 (CCR2) antagonist to the incised skin or TG suppressed the enhancement of mechanical allodynia of the whisker pad skin. Furthermore, local administration of CC chemokine ligand 2 (CCL2) induced further increase of mechanical allodynia in the incised whisker pad skin compared to the vehicle-injected rats. Macrophages and glial cells also showed CCL2 immunoreactivity, respectively. Furthermore, the significant increase in the amount of CCL2 protein was observed on day 14 following re-incision.

The present findings suggest that neonatal orofacial incision further accelerates TG neuronal activity in association with Nav 1.8 hyper-expression via CCL2 signaling, resulting in the further enhancement of orofacial incisional pain.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-34 ヒト象牙芽細胞における機械刺激誘発性細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度増加

○松永真由美^{1,2}, 木村 麻記², 戸田はる菜², 大山 定男², 大房 航², 東川明日香², 澁川 義幸², 一戸 達也¹

¹東歯大 麻酔

²東歯大 生理

象牙芽細胞は象牙質感覚の発生と伝達に重要な役割を果たす感覚受容細胞であり、象牙質表面に加わる刺激によって象牙質を形成する。象牙質への外的刺激は、象牙細管内液の移動とそれに伴う象牙芽細胞膜の伸展を誘発する。その膜伸展が象牙芽細胞への機械刺激となる。以前、我々はラット急性単離象牙芽細胞において機械刺激が加わると機械感受性 transient receptor potential チャンネルを介した細胞外からの Ca^{2+} 流入が生じることを報告した。加えて、その Ca^{2+} 流入によって生じた象牙芽細胞内 Ca^{2+} シグナルは反応象牙質形成に関与することが示唆された。しかしながら、ヒト象牙芽細胞において機械刺激時に誘発される細胞応答は不明である。そこで本研究はヒト培養象牙芽細胞 (human odontoblast: HOB) における機械刺激誘発性細胞内 Ca^{2+} シグナルを検討した。HOB に機械刺激を加え、fura-2 を用いた細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 測定を行った。細胞外 Ca^{2+} 存在下において、HOB に機械刺激を加えると一過性に $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は増加した。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が静止レベル付近まで戻った後、HOB に再び機械刺激を加えると一過性に $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は増加し、その $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加は脱感作しなかった。機械刺激を行った HOB の近傍に存在する他の HOB においても一過性の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加がみられた。これらの結果から HOB は機械刺激を受容すること、機械刺激により細胞内 Ca^{2+} シグナルを生じることが示された。加えて、HOB は周囲に存在する HOB と細胞間連絡を行っ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。

Mechanical stimulation-induced intracellular free Ca^{2+} concentration increase in human odontoblast

○Matsunaga M^{1,2}, Kimura M², Toda H², Oyama H², Ofusa W², Higashikawa A², Shibukawa Y², Ichinohe T¹

¹Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll

²Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

Odontoblasts play critical roles in dentin formation and sensory transduction following various stimuli to dentin surface. In the previous study, we reported that mechanical stimulation evoked Ca^{2+} influx from extracellular medium through mechanosensitive ionic channels in acutely isolated rat odontoblasts. The results suggest that the Ca^{2+} signaling in odontoblasts is involved in reactive dentin formation. However, the responses induced by mechanical stimulation in human odontoblasts (HOB) cells remain unclear. In this study, we investigated mechanical stimulation-induced Ca^{2+} signaling in HOB cells. HOB cells showed positive staining for dentin sialoprotein and dentin matrix protein 1. Intracellular free calcium concentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) was measured using fura-2. In the presence of extracellular Ca^{2+} , mechanical stimulation to HOB cells transiently increased $[\text{Ca}^{2+}]_i$. After $[\text{Ca}^{2+}]_i$ returned to the near-resting levels, we applied repeated mechanical stimulation to HOB cells, resulting in transient $[\text{Ca}^{2+}]_i$ increases in HOB cells. The repeated mechanical stimulation did not show a desensitizing effect on $[\text{Ca}^{2+}]_i$ increases. We also observed transient $[\text{Ca}^{2+}]_i$ increases in neighboring HOB cells to the stimulated HOB cell. These results indicate that mechanical stimulation produces intracellular Ca^{2+} signaling in HOB cells. In addition, they suggest the existence of intercellular odontoblast-odontoblasts communication.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-35 喘息モデルマウスの機械的アロディニアと TRPV1

○曹 愛琳^{1,2}, 高 イキ¹, 吉本 怜子^{1,2}, 合島怜央奈³, 大崎 康吉^{1,2}, 本田 裕子¹,
内野 加穂¹, 西田 寛汰¹, 田原 愛理¹, 城戸 瑞穂^{1,2}

¹佐賀大 医 組織・神経解剖

²九大 院歯 口腔病理

³佐賀大 医 歯科口腔外科

TRPV1 contribute to Facial mechanical hyperalgesia in mouse asthma model

○Cao AL^{1,2}, Gao WQ¹, Yoshimoto RU^{1,2}, Aijima R³, Ohsaki Y^{1,2}, Honda Y¹, Uchino K¹,
Nishida K¹, Tabaru A¹, Kido MA^{1,2}

¹Dept Anat and Physiol, Saga Med Sch

²Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

³Dept Oral and Maxillofac Surg, Saga Med Sch

Purpose: Allergic diseases such as atopic dermatitis or asthma have become prevalent worldwide. Sensitive skin impairs the quality of life of patients and exacerbates the diseases. Recently it is reported that asthma model mice had more activated glia cells in the spinal cord and displayed tactile allodynia by plantar stimulation model. We here aimed to know whether facial skin sensitivity. We also explored the contribution of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) in the relationship between tactile allodynia and gliosis and neuronal activation. Materials & 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 on all three groups. We compared mechanical hypersensitivity of TRPV1 gene-deficient mice (TRPV1^{-/-}) and the mice pretreated with TRPV1 antagonist with wild-type mice. After behavior test the mice were transcardially perfused with paraformaldehyde and the extracted tissues were immunohistochemically examined. Results & Conclusion: OVA sensitized mice showed significantly higher sensitivities to mechanical stimulation in facial skin compared with the control groups. Larger numbers of TRPV1 immunoreactive neurons in the trigeminal ganglion (TG) and facial skin was found in the OVA-induced asthma model mice than PBS or Alum-injected mice. In addition, sensitivity to mechanical stimulus was suppressed in TRPV1 antagonist group and TRPV1 gene-deficient mice compared with control group. Our data suggested that OVA sensitization was associated with tactile allodynia via TRPV1 in the neuronal cell bodies and peripheral endings in the skin.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-36 IFN- γ シグナルを介したグリア細胞の活性化は口腔顔面領域の神経障害性疼痛増強に関与する

○浅野早哉香^{1,2}, 菅原 詩織^{2,3}, 岡田 明子¹, 篠田 雅路², 岩田 幸一², 今村 佳樹¹

¹日大 歯 口腔診断, ²日大 歯 生理

³医科歯科大 院医歯 歯科心身医学

【目的】 脊髄後角において、末梢神経障害によりミクログリアの活性化や IFN- γ 発現量の上昇を引き起こすことが報告されているが、そのメカニズムについては不明な点が多く残されている。そこで本研究では、口腔顔面領域における神経障害性疼痛に対する IFN- γ の関与を解明することを目的とした。【方法】 ラットの左側眼窩下神経を半結紮した IONI ラットを作製した。三叉神経第 2 枝領域 (V2) に機械刺激を加え、逃避反射閾値 (HWT) を測定した。また、神経結紮 3 日及び 21 日目の三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) において Iba1 (marker for activated microglia), GFAP (marker for activated astrocyte) 及び NeuN (marker for neuron) と IFN- γ 受容体 (IFN- γ R) の発現様式を免疫組織学的手法と Western blot 法を用いて解析した。3 日間、IFN- γ , IFN- γ アンタゴニスをくも膜下腔内に持続投与し、HWT の変化を調べた。また、Vc ニューロンの応答特性についても解析を行った。【結果】 IONI ラットの HWT は、結紮 3, 6, 10, 14 日目において有意に低下した。また、IONI ラットの Iba1 陽性発現及び GFAP 陽性発現は有意に増加し、IFN- γ R の発現が認められた。IONI ラットの IFN- γ タンパク量は神経結紮 3 日目に有意に増加した。IFN- γ の持続投与により HWT の有意な低下が認められた。さらに、IFN- γ アンタゴニスト投与により、HWT の低下が抑制された。IONI ラットでは sham ラットに比較して侵害受容ニューロンの自発放電頻度および機械応答の有意な増加を認めた。【結論】 IFN- γ は Vc 領域で活性化されたミクログリアおよびアストロサイトに作用し、眼窩下神経障害により引き起こされる口腔顔面の痛覚過敏に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。

Activation of glial cells via IFN- γ signaling is involved in an enhancement of orofacial neuropathic pain

○Asano S^{1,2}, Sugawara S^{2,3}, Okada-Ogawa A¹, Shinoda M², Iwata K², Imamura Y¹

¹Dept Oral Diagnostic Sci, Nihon Univ Sch Dent, ²Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

³Dept Psychosomatic Dent, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

It is well known that trigeminal nerve injury causes persistent orofacial pain. To develop the appropriate treatment for these patients, it's important to know the mechanisms underlying this pathological pain. However, the exact mechanism is still unknown. We examined the involvement of Interferon gamma (IFN- γ) signaling in trigeminal spinal subnucleus caudalis (Vc) in orofacial mechanical hypersensitivity associated with trigeminal nerve injury. Infraorbital nerve injury (IONI) was established in male SD rats by partial ION ligation. The head-withdrawal reflex threshold (HWT) was decreased on day 3 after IONI. IFN- γ antagonism in Vc recovered from the decrement of the HWT after IONI rats, and i. c. m administration of IFN- γ decreased the HWT in naïve rats. In Vc, IFN- γ receptor was expressed in both microglia and astrocyte, and its expression level was increased on day 3 after IONI. Spontaneous discharges and high frequency of spikes are found in IONI group. The present findings suggest that the activation of glial cells via IFN- γ signaling is a key mechanism underlying orofacial neuropathic pain associated with a trigeminal injury.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-37 三叉神経を介する体性感覚入力と迷走神経に由来する内臓求心性入力の唾液腺血流に対する異なる作用

○ラマダニラトナ, 三戸 浩平, 佐藤 寿哉, 石井 久淑

北医療大 歯 生理

Different effects between trigeminal sensory and vagal-visceral input on salivary glands blood flow

○Ramadhani R, Mito K, Sato T, Ishii H

Div Physiol, Dept Oral Biol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Introduction: Adequate blood supply to the three major salivary glands, submandibular (SMG), sublingual (SLG), and parotid (PG), is important for saliva production because the fluid in saliva originates from blood capillaries and the interstitial fluid. Salivary gland hemodynamics is regulated by the sensory and autonomic nervous system via several cranial nerves, including the trigeminal and vagus nerves. Trigeminal sensory input is essential for regulating hemodynamics and secretion of salivary gland in the orofacial area (Sato & Ishii, 2015). In addition, the vagal-visceral input plays an important role in mastication and digestion. The vagal visceral input elicited by electrical stimulation of the cervical vagus nerve (CVN) has been shown to increase the blood flow to the masseter muscle in rats (Ishii et al., 2010). Although afferent electrical stimulation of the vagus nerve has been reported to induce salivation in anesthetized rodent (Ueda et al., 2016), the effect of vagal-visceral input on hemodynamics in salivary glands remains unclear. Therefore, the purpose of this study was to evaluate and compare the different effects of trigeminal sensory and vagal-visceral inputs on blood flow in salivary glands. Materials and Methods: Ten to eleven-week-old Wistar rats weighing 325–350 g were anesthetized with urethane (1.0 g/kg) and artificially ventilated. The femoral artery and vein were cannulated and used for blood pressure measurements and administration of various drugs. The cervical sympathetic trunk (CST) on both side and the CVN on the right side were cut before the stimulation of the left abdominal vagus nerve (AVN). The left CVN and lingual nerve (LN) were stimulated after cutting the CST and CVN. A bipolar electrode was placed on the left AVN, LN, and CVN and electrical stimulations with supramaximal intensity (20 V, 20 Hz, 2-ms duration) were applied for 20 s. The hemodynamics of the salivary glands (SMG, SLG, and PG) were recorded using a laser speckle imaging blood flow meter. Systemic arterial blood pressure (SABP) was recorded from the femoral catheter using a Statham pressure transducer. Results and Discussion: Our results indicated that LN stimulation elicited an increase in both SABP and blood flow in the SMG, SLG, and PG. Furthermore, CVN and AVN stimulation induced an increase in SABP; however, blood flow increase in the three salivary glands was lower than that observed after LN stimulation. In conclusion, trigeminal sensory input rather than vagal-visceral input appears to be involved in the regulation of blood flow in the salivary glands.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-38 眼窩下神経損傷後に発症する顔面部機械アロディニアに対する Insulin-like growth factor-1 の役割

○菅原 詩織¹, 篠田 雅路², 岩田 幸一²

¹医科歯科大 院医歯 歯科心身医学

²日大 歯 生理

末梢神経損傷後に損傷部位に浸潤するマクロファージから放出される Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) は、損傷神経再生に関与していることが知られているが、眼窩下神経損傷 (IONI) 後の顔面部神経障害性疼痛に対する役割は不明である。本研究では、IONI 後の顔面部機械アロディニアに対する IGF-1 の役割を検討した。Sprague-Dawley 雄性ラットの右側眼窩下神経を半結紮し IONI モデルを作製した。IONI 後 15 日目まで、von Frey filaments を用いた三叉神経第二枝支配領域皮膚 (口髭部) への機械刺激に対する逃避反射閾値 (MHWT) が有意に低下した。IONI 部への IGF-1 receptor である Transient receptor potential vanilloid (TRPV) 2 のアンタゴニスト持続投与により、MHWT の低下が抑制された。IONI 後 3 日目、IONI 部において IGF-1 陽性マクロファージ数が増加し、同部位における IGF-1 量も有意に増加した。また、口髭部への機械刺激に応答する三叉神経脊髄路核尾側亜核に存在する広作動域ニューロンの興奮性が増強したが IONI 部への TRPV2 アンタゴニスト (Tranilast) 持続投与により抑制された。IONI 側三叉神経節 (TG) において、TRPV2 陽性かつ TRPV4 陽性口髭部投射 TG ニューロン数が増加したが IONI 部への Tranilast 持続投与により抑制された。さらに、IONI 後に生じる口髭部の MHWT の低下は、口髭部への TRPV4 アンタゴニスト投与により有意に抑制された。以上より、IONI 後に IONI 部へ浸潤するマクロファージから放出される IGF-1 が口髭部投射 TG ニューロンに発現する TRPV2 に結合し、そのシグナルが TRPV4 発現を増加させ口髭部の機械アロディニアの発症させ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。

Role of insulin-like growth factor-1 in face mechanical allodynia following infraorbital nerve injury

○Sugawara S¹, Shinoda M², Iwata K²

¹Dept Psychomatic Dent, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

²Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

Association of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) released from macrophages following infraorbital nerve injury (IONI) and orofacial neuropathic pain is unknown. We examined the role of IGF-1 in facial allodynia after IONI. ION of Sprague-Dawley male rat was half-ligated to develop the IONI model. Until the day 15 after IONI, the head-withdrawal threshold to mechanical stimulation (MHWT) to the facial skin (V2) was significantly decreased. The continuous administration of TRPV2 antagonist (Tranilast) to the IONI area suppressed MHWT reduction. On day 3 following IONI, the number of IGF-1-immunoreactive macrophages increased in the IONI region, and the amount of IGF-1 protein significantly increased at the injured site. The excitability of wide dynamic range neurons in trigeminal subnucleus caudalis (Vc) was significantly increased, and Tranilast suppressed its enhancement. In the IONI trigeminal ganglia (TG), the number of TRPV2 and TRPV4-immunoreactive neurons was increased, and this increment was suppressed by Tranilast administration into the IONI area. Furthermore, the reduction of MHWT following IONI was significantly recovered by the administration of TRPV4 antagonist. These suggest that IGF-1 released from macrophages in IONI site binds to TRPV2 in TG neurons, and TRPV4 expression is enhanced, resulting in mechanical hyperalgesia in the face following IONI.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-39 ラット三叉神経節ニューロンにおける P2X7 受容体-pannexin-1 チャネル-P2X4 受容体相互作用の電気生理学的機能検索

○井上 博之¹, 黒田 英孝², 石川 昂³, 大山 定男⁴, 東川明日香⁴, 木村 麻記⁴, 澁川 義幸⁴, 一戸 達也¹

¹東歯大 麻酔, ²神歯大 院歯 全身管理医歯, ³東歯大 組織発生, ⁴東歯大 生理

細胞が炎症や組織障害にさらされると、ATPは細胞外に漏出するか、あるいはATP透過経路によって放出される。細胞外ATPはP2X受容体を活性化することで炎症や疼痛に関与することが報告されている。しかし、三叉神経におけるその活性化メカニズムは明らかではない。今回、ラット三叉神経節(TG)ニューロンのP2X受容体活性化メカニズムについて電気生理学的検索を行った。新生仔ラットの三叉神経節を単離、初代培養した。Whole-cell patch-clamp法を用いて神経細胞の同定と機能検索を行った。試薬はP2X受容体作動薬のATP、Bz-ATP、P2X7受容体拮抗薬のA-740003、A-438079、P2X4受容体拮抗薬の5-BDBD、PSB-12062、Pannexin-1チャネル阻害薬のmefloquine、10Pannexin、ATP分解酵素であるapyraseを用いた。TGニューロンにATPまたはBz-ATPを投与すると二相性の内向き電流が発生した。この電流は一相、二相ともにA-438079に抑制された。二相目の電流密度は5-BDBD、PSB-12062、mefloquine、10Pannexin、apyraseにより有意に抑制された。TGニューロンにP2X7受容体、P2X4受容体、Pannexin-1チャネルが発現し、P2X7受容体活性化に続くPannexin-1からのATP放出が二相性内向き電流発生に関与していることが示された。一相目の内向き電流にはP2X7受容体に関与しているが、二相目の内向き電流にはP2X4受容体活性化が関与していた。高濃度ATPに曝露されると、P2X7受容体が活性化し陽イオンを細胞内へ流入させる。陽イオン流入を感知したPannexin-1チャネルはATPを細胞外へ放出する。このATPがP2X4受容体を自己分泌性に活性化させることが示された。一連の相互作用が炎症や疼痛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。

P2X7 receptor- pannexin- 1- P2X4 receptor interaction in rat trigeminal ganglion neurons: electrophysiological study

○Inoue H¹, Kuroda H², Ishikawa N³, Ohyama S⁴, Higashikawa A⁴, Kimura M⁴, Shibukawa Y⁴, Ichinohe T¹

¹Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll, ²Dept Crit Care Med Dent, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ³Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll, ⁴Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

ATP is essential substances to induce or generate inflammatory and/or nociceptive responses. Extracellular ATP activates the P2X receptor. The detailed activation mechanism of P2X receptor in the trigeminal ganglion (TG) neurons has not yet been elucidated. We thus investigated an activation mechanism of P2X receptors in rat TG neurons by electrophysiological approach. TG neurons were isolated and primary cultured. Identification and function search were performed using Whole-cell patch-clamp technique. The reagents used were ATP, Bz-ATP, A-740003, A-438079, 5-BDBD, PSB-12062, mefloquine, ¹⁰Pannexin, and apyrase. Administration of ATP or Bz-ATP generated biphasic inward currents. The biphasic inward currents were suppressed by A-438079. The second components of the Bz-ATP-induced biphasic currents were significantly suppressed by 5-BDBD, PSB-12062, mefloquine, ¹⁰Pannexin, and apyrase. P2X7 receptor activities were involved in the first component, while P2X4 receptor activities were involved in the second component. Activation of the P2X7 receptor by ATP/Bz-ATP resulted in the influx into the cell generating first component and activates the pannexin-1 channel. Activation of pannexin-1 channels release ATP extracellularly. The released ATP activates the P2X4 receptor resulting in the generation of second component. It suggested that P2X7 receptor-pannexin-1-P2X4 receptor interactions were involved in inflammatory or nociceptive response in the orofacial area.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-40 ラット扁平上皮癌細胞の機械感受性イオンチャネル

○石崎 元樹^{1,2}, 大山 定男¹, 大房 航¹, 東川明日香¹, 木村 麻記¹, 澁川 義幸¹, 一戸 達也²

¹東歯大 生理

²東歯大 歯科麻酔

目的：癌性疼痛は神経障害性疼痛や侵害受容性疼痛など様々な要因によって引き起こされる。癌細胞は増殖につれて神経や周囲組織を圧迫し疼痛を発現する。しかし近年の研究では初期の扁平上皮癌において癌細胞が疼痛抑制物質を放出することで増殖時の疼痛を抑制していることが示唆されている。しかしその抑制のメカニズムの多くは明らかでない。そこでラット扁平上皮癌細胞の機械感受性と周囲細胞への拡散性疼痛抑制物質の放出について検討した。方法：継代されたラット扁平上皮癌細胞 (SCC-158) に fura-2/AM を負荷し、細胞内遊離 Ca²⁺ 濃度 ([Ca²⁺]_i) を計測した。SCC-158 に対する直接機械刺激は微小ガラス管電極を用いて 4 秒間かけて 8 μm の細胞膜圧迫を行い、そのまま 22 秒間電極を保持することで行った。その後 4 秒間で細胞膜圧迫を解除した。直接機械刺激を連続 3 回行い、刺激した細胞とその周囲の細胞の [Ca²⁺]_i 変化を記録した。結果：細胞外 Ca²⁺ 存在下で SCC-158 に機械刺激を加えると、一過性の [Ca²⁺]_i 上昇がみられた。同一の細胞に 3 回の繰り返し刺激を行ったが、それらの [Ca²⁺]_i 増加に差はみられなかった。機械刺激を行った SCC-158 の周囲の細胞においても一過性の [Ca²⁺]_i 上昇が認められた。細胞外 Ca²⁺ 存在下で、10 μM Gd³⁺ 投与すると機械刺激を行った細胞の 35% に [Ca²⁺]_i 増加の抑制がみられた。結論：ラット扁平上皮癌細胞が機械感受性陽イオンチャネルを発現していることが示唆された。今後、ニューロンとの共培養系を確立し、両者の相互作用を検討する。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Mechanosensitive characteristics of rat squamous cell carcinoma cells

○Ishizaki M^{1,2}, Ohyama S¹, Ohfusa W¹, Higashikawa A¹, Kimura M¹, Shibukawa Y¹, Ichinohe T²

¹Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

²Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll

Cancer pain is caused by complex factors resulting in the neuropathic pain and nociceptive pain. However, the regulatory mechanisms of cancer pain by cancer cell itself remain unclear. In the present study, we investigated mechanosensitive characteristics of rat squamous cell carcinoma cells, that may modulate pain intensity. Rat squamous cell carcinoma cells (SCC-158) were used. Intracellular free Ca²⁺ concentration ([Ca²⁺]_i) was measured by fura-2/AM. Direct mechanical stimulation to single SCC-158 was performed, and [Ca²⁺]_i changes were recorded from mechanically stimulated cells and its neighboring cells. During direct mechanical stimulation to SCC-158, we could observe transient [Ca²⁺]_i increase. Repeated mechanical stimulation to the SCC-158 induced repeated [Ca²⁺]_i increase, but the increase did not show desensitizing effects. Transient [Ca²⁺]_i increase was also observed in neighboring cells to the stimulated SCC-158. Application of Gd³⁺ inhibited mechanical stimulation-induced Ca²⁺ increase in the 35% of stimulated SCC-158 (5 cells/14 cells). We suggest that rat squamous cell carcinoma cells express mechanosensitive cation channel.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-41 ラット脳幹部の呼吸循環調節領域におけるイミダゾリン 1 受容体の局在性に関する免疫組織学的検討

○永倉由加里, 井出 良治, 佐伯 周子, 北島躍一郎, 橋爪 那奈, 今井 敏夫
日齒大 生命歯 生理

【目的】一般的に、人工呼吸下の成人や小児の鎮静等に用いられている dexmedetomidine (DEX) は α_2 -adrenergic receptor (α_2 -AR) 作動薬であり、強い循環抑制効果がある。その背景には α_2 -AR とは別に imidazoline-1 receptor (I_1R) の活性化の関与が示唆されている。一方、循環と共に生命維持に不可欠な呼吸に対しても DEX は抑制的効果をもつが、DEX 投与後の呼吸変化における I_1R 活性化の役割とその機序は解明されていない。そこで我々は、手がかりの一つとして、脳幹部の呼吸循環中枢領域における I_1R の局在性を調べた。【方法】生後 2-4 日齢の Wistar 系新生仔ラット (n = 2, 8-11g) を深麻酔し、呼吸停止を確認後、冷却人工脳脊髄液内で脳幹部を摘出し、4% パラホルムアルデヒド固定と脱水後に凍結し切片 (厚さ 10 μ m) を作成した。ブロッキング、1 次抗体および 2 次抗体反応の後、共焦点レーザー顕微鏡で I_1R の局在性を観察した。1 次抗体は、 I_1R 発現の指標として NISCH antibody を用い、呼吸循環中枢領域の指標として tyrosine hydroxylase (TH) antibody を用いた。【結果】NISCH 陽性細胞は、TH 陽性の細胞が分布する尾側～吻側延髄および橋の領域を含めて、脳幹部に広く認められた。【考察】今回 I_1R の発現が認められた領域には、各々が呼吸循環中枢、心肺受容器の入力部位および呼吸調節領域としても知られている腹外側延髄、孤束核および橋の青斑核等が含まれていた。以上より、これら脳幹部領域に存在する I_1R が DEX により活性化され、DEX 投与後の循環だけでなく呼吸の変化にも関与する可能性が新たに示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Immunohistochemical localization of imidazoline 1 receptors in cardiorespiratory control system in rat brainstem

○Nagakura Y, Ide R, Saiki C, Kitajima Y, Hashizume N, Imai T
Dept Physiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

< Introduction > Dexmedetomidine (DEX) is a α_2 -adrenergic receptor (α_2 -AR) agonist and applied to patients as a sedative. DEX also activates imidazoline 1 receptor (I_1R), and the activation has been suggested to be involved in the DEX-related cardiorespiratory depression. In this study, we examined location of I_1R -positive cells in the brainstem, particularly among the area related to cardiorespiratory centers by using immunohistochemistry. < Materials and methods > Newborn Wistar rats (n = 2, 8-11 g) were deeply anesthetized and after termination of breathing brainstem were dissected out. The dissected tissue was fixed in 4% paraformaldehyde and frozen serial sections (10 μ m thick) were cut with a cryostat. The sections were incubated in a blocking solution and with primary and secondary antibodies, and immunofluorescence was visualized by using a spectral confocal microscope. To identify I_1R and cardiorespiratory centers, we applied NISCH and tyrosine hydroxylase (TH) antibodies, respectively, as primary antibodies. < Results > NISCH-positive neurons were abundant in brainstem, including the area related to caudal and rostral ventrolateral medulla (CVLM and RVLM), nucleus tractus solitaries (NTS), and locus coeruleus (LC). < Conclusion > Our results suggest that activation of I_1R located in brainstem could be a factor to induce circulatory and respiratory changes at DEX administration.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-42 三叉神経節ニューロンの機械刺激誘発性細胞間コミュニケーション

○矢崎 龍彦^{1,2}, 大山 定男¹, 大房 航¹, 戸田はる菜¹, 黒田 英孝³, 東川明日香¹,
木村 麻記¹, 澁川 義幸¹, 一戸 達也²

¹東歯大 生理

²東歯大 麻酔

³神歯大 院歯 全身管理医歯

【緒言】ニューロンと非ニューロン間における傍分泌性連絡が近年多く報告されている。この細胞間の連絡はニューロンから放出されたりガンド（化学的メッセンジャー）とその受容体結合で確立される。しかし、ニューロン同士の傍分泌性連絡についての報告は未だない。そこで本研究は直接機械刺激によってニューロンから放出されるであろうリガンドが隣在するニューロンと細胞間連絡を構成するか否かを明らかにする事を目的とした。【方法】7日齢ウイスター系ラットより麻酔下に三叉神経節細胞を取り出し急性単離したのち48時間初代培養（5% CO₂, 95% Air, 37°C）を行った。Ca²⁺ 蛍光指示薬である fura-2 を細胞に負荷（1時間）し、340 nm と 380 nm の励起波長による蛍光強度比（510 nm）から細胞内遊離 Ca²⁺濃度（[Ca²⁺]_i）の記録を行った。標準細胞外液は等張性 Hanks 溶液（334 mOsm/L）とし、微小ガラス管電極により細胞に直接機械刺激を加えた際の[Ca²⁺]_i 変化を、刺激したニューロンおよび周囲のニューロンから同時に計測した。【結果】ラット三叉神経節細胞への直接機械刺激により[Ca²⁺]_i が上昇した。この[Ca²⁺]_i 増加は繰り返し刺激を行っても脱感作を示さなかった（p>0.05）。加えて、直接刺激を与えた細胞のみならず、その近傍に存在する細胞でも[Ca²⁺]_i の上昇がみられた。この結果は、機械刺激を受容したニューロンが、拡散可能な細胞間伝達物質を放出し、周囲のニューロンと機能的な細胞間連絡を確立していることを示唆していた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Mechanical stimulation-induced intercellular communication of trigeminal ganglion neurons

○Yazaki T^{1,2}, Oyama S¹, Ofusa W¹, Toda H¹, Kuroda H³, Higashikawa A¹, Kimura M¹,
Shibukawa Y¹, Ichinohe T²

¹Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

²Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll

³Dept Crit Care Med Dent, Kanagawa Dent Univ

Recently, paracrine communication between neurons and non-neuronal cells has been well described. But there has been a little report on the intercellular communication between neurons. We, thus, aimed to clarify whether the diffusible factors released by direct mechanical stimulation to the single neurons establish intercellular network among neurons in paracrine manner or not. We dissected trigeminal ganglion (TG) from neonatal Wistar rats (7 days old) under anesthesia. We then acutely isolated TG cells, and the cells were primary cultured (5% CO₂, 95% air, 37°C). The cells were loaded with fura-2, and the intracellular free Ca²⁺ concentration ([Ca²⁺]_i) was recorded from the fluorescence (510 nm) intensity ratio at excitation wavelengths of 340 nm and 380 nm. Direct mechanical stimulation to the TG cells increased [Ca²⁺]_i. In addition, not only directly stimulated neurons, but also the neurons which are located nearby stimulated neurons showed an increase in [Ca²⁺]_i. The results suggested that neurons that received mechanical stimulation are capable to release diffusible intercellular transmitters to establish functional intercellular communication among them.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-43 高残留性軟膏基剤を用いたステロイドの口内炎に対する効果

○浪花 真子^{1,2}, 人見 涼露¹, 氏原 泉¹, 鹿山 武海³, 松田 一成⁴, 吉野 賢一⁵,
小野堅太郎¹

¹九歯大 歯 生理, ²九歯大 口腔保健, ³九歯大 歯 歯周, ⁴第一三共ヘルスケア, ⁵九歯大
共通基盤教育

口内炎の治療薬として主に軟膏剤が広く使用されている。軟膏剤はベースとなる軟膏基剤と薬効成分から構成される。軟膏剤の有効性は粘膜への滞留時間の長さに依存すると考えられている。軟膏基剤の種類によって口腔内への付着性や残留性が異なっており、薬効成分の有効性は不明な点が多い。本研究では軟膏剤に適した軟膏基剤を選択したのち、薬効成分であるステロイドを添加し、口内炎への影響を検討した。まず、ワセリン、プラスティベース、トラフル軟膏基剤 (TO)、トラフル軟膏 PRO クイック基剤 (TOPQ) の4種の軟膏基剤について、レオメーターによる物性測定とヒト官能試験によって付着性と残留性を評価した。その結果、最も高残留性に優れたものを軟膏基剤として動物実験に使用した。動物は雄性 Wistar ラットを使用した。三種混合麻酔下にて下顎口腔前庭部に50%酢酸を用いて口内炎を作製した。実験群は、無処置群、基剤群、基剤にステロイドのトリアムシノロンアセトニド (Tmc) を配合した群とし、酢酸処理2日目から5日目まで1日2回各種軟膏を塗布した。最も痛みが強いとされている2日目に自発痛の指標である口腔ラビング時間を測定した。また、口内炎部組織におけるグルココルチコイド受容体標的遺伝子である GILZ および、TNF- α と COX2 の遺伝子発現を定量性 RT-PCR にて測定した。物性測定およびヒト官能試験の結果、TO が最も高残留性に優れていた。口内炎によって延長した口腔ラビング時間は、TO + Tmc 群で有意に低下した。さらに、無処置群と比較して、TO + Tmc 群では GILZ の発現量が増加していた。一方で、口内炎により増加した TNF- α と COX2 遺伝子の発現量はともに低下していた。以上より、口内炎部への高残留性軟膏基剤を用いたステロイド製剤含有軟膏剤の局所塗布は、口内炎の疼痛抑制に有用であることが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にあります。

Effects of highly-residual ointments with steroids on oral ulcerative mucositis

○Naniwa M^{1,2}, Hitomi S¹, Ujihara I¹, Shikayama T³, Matsuda K⁴, Yoshino K⁵, Ono K¹

¹Div Physiol, Kyushu Dent Univ, ²Dept Oral Health Sci, Kyushu Dent Univ, ³Div Periodontal, Kyushu Dent Univ, ⁴Daiichi Sankyo Healthcare Co. Ltd., ⁵Sect Primary Dent Educ, Kyushu Dent Univ

Ointments are widely used as a treatment for oral ulcerative mucositis (OUM). It is composed of ointment base and medicinal drugs. There are differences in adhesiveness and residual property in the oral cavity among available ointments. In this study, we compared the physical and sensory properties of various ointment bases (vaseline, plastibase, traful ointment [TO] base and traful ointment pro-quick [TOPQ] base) in a rheometer and investigated the effects of the highly-residual ointment with steroid on pain of OUM. TO and TOPQ showed higher adhesiveness and residue than vaseline and plastibase. Based on these results, we used the TO base as highly-residual ointment for the following animal experiments and applied it with the steroid triamcinolone acetonide (Tmc). In rats, OUM was developed in the inferior labial fornix region by soaking in 50% acetic acid under anesthesia. Ointments were applied twice a day. On day 2, prolonged facial grooming behavior (a sign of spontaneous pain) was shortened by Tmc-containing TO, compared with non-treatment group. In Tmc group, mRNA level of the glucocorticoid receptor target gene GILZ was increased while TNF- α and COX2 mRNA levels were decreased. These results suggest that Tmc in the highly-residual ointments are effective for pain relief.

Conflict of Interest: The authors have conflict of interests.

P1-44 Expression of small leucine-rich proteoglycans (SLRPs) in developing mouse molar tooth germ

○アンガンマナランディリニ, 柴田 俊一

医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖

Expression of small leucine-rich proteoglycans (SLRPs) in developing mouse molar tooth germ

○Angamma R, Shibata S

Dept Maxillofac Anat Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent

Purpose: Small leucine-rich proteoglycans (SLRPs) has been identified as an important component in the extra-cellular matrix of teeth and bone with regard to their functional relations with collagen fibrillogenesis and mineralization. They were widely observed in teeth with different patterns of expression. However the exact function of SLRPs in tooth formation is still controversial. In this study we investigate the gene expression and protein localization of decorin, biglycan, fibromodulin and lumican in developing mouse molar tooth germ. Material and Method: Immunohistochemistry and in situ hybridization were performed using mandibular first molar of ICR mice at E13.5, E15.0, E16.0, E18.5, P1, P3, and P7. Results: Biglycan mRNA was evident in condensed mesenchyme at E13.5, and continued in dental papilla until E16.0. Whereas decorin mRNA was located in the mesenchyme around the tooth germ, but not within the tooth germ. At E18.5, decorin mRNA started to be expressed in differentiated odontoblasts while biglycan mRNA was only expressed in newly differentiating odontoblasts. From P1 to P3, mRNA expression of biglycan had overcome decorin, by being more significantly expressed in odontoblast cell layer where decorin expression was restricted to early differentiated odontoblasts, and was reduced in matured odontoblasts. At P7 expression of both mRNA was reduced, but only seen in young odontoblasts. Immunohistochemistry showed positive reaction for biglycan in the dental papilla/dental pulp as well as in the pre dentin, which also showed decorin immunoreactivity. Expression of fibromodulin and lumican mRNA was negative for tooth germ in all stages, but their immunoreactivity was clearly recognized in the pre dentin. Conclusion: Biglycan is the principal molecule involved in tooth formation among the investigated SLRPs. It is the first to appear in tooth germ and also shows a remarkable role in the dental papilla and dental pulp. Despite of structural correlations, decorin shows mutual exclusive expression patterns with biglycan. Initial role of decorin in odontoblast differentiation is sooner diminished with cell maturity and taken over and maintained by biglycan. This study suggests that SLRPs have their own tissue specific roles in tooth formation which show different patterns in each stage of development.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-45 Gタンパク質共役型受容体 Gpr115 はエナメル芽細胞における炭酸脱水素酵素の発現を制御しエナメル質形成に関与する

○千葉 雄太¹, 齋藤 幹¹, 吉崎 恵悟², 福本 敏^{1,3}

¹東北大院歯 小児歯, ²九大 院歯 矯正, ³九大 院歯 小児口腔

Gタンパク質共役型受容体(GPCR)はGタンパク質を介したシグナル伝達により様々な細胞機能を制御するとともに, 組織特異的なGPCRは器官形成に重要な役割を有する. 一方, 歯の発生におけるGPCRの役割は未だ不明である. 我々は, 歯胚cDNAライブラリに発現するGPCRをマイクロアレイ法によりスクリーニングした結果, 今までその機能に関する報告のないGpr115が, 歯胚に強く発現することを見出した. そこで本研究ではGpr115の歯の発生における機能解析を目的とした. 歯の発生過程において, Gpr115は成熟期に相当する歯胚において強く発現しており, その発現はエナメル芽細胞に局在していた. Gpr115欠損マウスを作成したところ, Gpr115欠損マウス切歯のエナメル質は白濁し, 明らかなエナメル質形成不全症を呈していた. SEM-EDXを用いた元素分析の結果, エナメル質表層の炭素及び酸素含有量に異常が認められ, 加えてpH指示薬による染色の結果, 酸性領域が野生型マウスと比較して広範にわたっていた. そこでGpr115の標的分子を探索するため, Gpr115欠損マウス臼歯歯胚における遺伝子発現差を, RNAシーケンスにより解析した結果, イオンの恒常性に関わる分子群の発現変化が認められ, 中でも成熟期エナメル芽細胞に高発現である炭酸脱水素酵素 Car6 の発現が有意に減少していた. これらの結果より, Gpr115はエナメル芽細胞における炭酸脱水素酵素を介したpH調整に関与することが示唆されたため, マウス歯原性上皮細胞株 CLDE を用いて, 酸性環境下における遺伝子発現変化を検討した. その結果, 酸性環境下においてはCar6の発現が上昇し, その発現誘導はsiGpr115によるGpr115の発現抑制により阻害された. 以上の結果より, Gpr115はエナメル芽細胞において, Car6の発現制御によりエナメル質形成過程におけるpHを調整することで, エナメル質形成に重要な役割を持つことが明らかとなった. 【会員外共同研究者】山田吉彦(米国国立衛生研)
【利益相反】 利益相反状態にはありません.

The G-protein coupled receptor Gpr115 regulates expression of the carbonic anhydrase in ameloblast during enamel formation

○Chiba Y¹, Saito K¹, Yoshizaki K², Fukumoto S^{1,3}

¹Div Ped Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ²Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³Sect Ped Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

G-protein coupled receptors (GPCRs) act as transducers of external signal by activating associated G-proteins and regulate cellular functions. Tissue-specific GPCRs have important roles in organ development, however, the role of GPCRs in tooth development has never clearly understood. We screened GPCRs expressed in a tooth germ using cDNA microarray and found that Gpr115 was highly expressed in tooth. The aim of our study is identifying the role of Gpr115 during tooth development. Gpr115 is highly expressed in the maturation stage of ameloblasts. To identify the role of Gpr115 during tooth development, we created Gpr115-KO mice. Gpr115-KO mice showed chalky-white incisors and decreased mineral density of enamel. SEM-EDX analysis revealed that carbon and oxygen composition was dysregulated in Gpr115-KO enamel and the staining with pH indicator showed the expansion of acidic area. Further, RNA-sequence analysis showed that the expression of carbonic anhydrase 6 (Car6) was drastically decreased in Gpr115-KO molars. In addition, we examined the gene expression of mouse dental epithelial cell line CLDE in acidic condition. The expression of Car6 is upregulated in acidic condition and this induction was inhibited by knockdown of Gpr115. Thus, Gpr115 plays an important role in enamel formation via regulating the Car6 expression in ameloblast.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-46 新規歯科インプラント材セリア系ジルコニア・アルミナ複合体は骨類似アパタイト結晶を誘導する

○齊藤 まり, 小沼 一雄, 山本 竜司, 山越 康雄

鶴大 歯 生化

【目的】 オッセオインテグレーションは歯科用インプラント材に必須の性能である。チタンによるオッセオインテグレーションは広く知られているが、チタンはアレルギー反応等のデメリットをもつ。我々は以前、セリア系ジルコニア・アルミナ複合体(Ce-TZP/Al₂O₃)が、その周辺にカルシウム塩化合物の析出を誘導することを見出し、歯科インプラント材としての有用性を報告した。本研究で我々は、Ce-TZP/Al₂O₃周囲に析出するカルシウム塩化合物の詳細な評価を行い、Ce-TZP/Al₂O₃が持つオッセオインテグレーション獲得機構を調査した。**【方法】** *in vitro* において骨芽細胞存在下で Ce-TZP/Al₂O₃周囲へカルシウム塩化合物を誘導析出させ、析出物のナノレベルでの物性評価を行った。**【結果および考察】** X線回折測定、走査および透過電子顕微鏡観察から、Ce-TZP/Al₂O₃周囲へ析出したカルシウム塩化合物が骨類似アパタイトであることを確認した。析出物は幅 10-20 nm のフレキシブル形状をしたナノファイバーがランダム方位で集合し、ファイバー間を薄板状の構造物がつなぐことで 300-700 nm の球状体を構成していた。高分解能透過電子顕微鏡像の解析とエネルギー分散分光分析測定により、ファイバーと薄板はともに hidroキシアパタイト結晶単相であり、結晶群の平均カルシウム/リン比は 1.40 であることがわかった。Ce-TZP/Al₂O₃を歯科インプラント材として用いるにあたり、インプラントフィクスチャー周囲への骨類似アパタイト結晶の析出は必須条件である。**【結論】** 上記の結果は、Ce-TZP/Al₂O₃が生体内においてその周囲に骨類似アパタイトを誘導し、オッセオインテグレーションを獲得す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。

Novel dental implant of Ce-TZP/Al₂O₃ induces bone-like apatite crystals

○Saito MM, Onuma K, Yamamoto R, Yamakoshi Y

Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Purpose: Osseointegration is an essential process for successful dental implant placement. We previously reported that a substrate composed of ceria-stabilized tetragonal zirconia polycrystals/aluminum oxide (Ce-TZP/Al₂O₃) induces formation of calcium salts around it, suggesting possibility as a novel dental implant. In this study, we investigated osseointegration mechanism of Ce-TZP/Al₂O₃ through detail characterization of Ce-TZP/Al₂O₃-induced calcium salt precipitates. **Materials & Methods:** Osteoblastic cells were cultured *in vitro* on the Ce-TZP/Al₂O₃ substrate to allow inducing calcium salts precipitation. Nano-level characterization of the precipitates using transmission electron microscopy (TEM) was performed after 14 days of culture. **Results & Discussion:** We concluded that the calcium salts precipitated around the Ce-TZP/Al₂O₃ resembled bone apatite. Precipitates consisted of flexible nano-fibers with 10-20 nm widths, and thin plates filled a gap between nano-fibers. These materials randomly aggregated forming spheres with 300-700 nm in diameter. High-resolution TEM observations showed that the precipitates consisted of hydroxyapatite single phase. Their average Ca/P atomic % ratio was ~1.40. When we use Ce-TZP/Al₂O₃ as the dental implant, it is required that the precipitation of bone-like apatite crystals occurs around the implant fixture. **Conclusion:** Our findings therefore suggest that the Ce-TZP/Al₂O₃ would show high biocompatibility and rigid osseointegration *in vivo*.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-47 骨粗鬆症モデルラットにおけるエルデカルシトール誘導性ミニモデリングの組織化学的解析

○長谷川智香¹, 山本知真也², 本郷 裕美¹, 坂井 貞興³, 與語 健二³, 網塚 憲生¹

¹北大 院歯 硬組織, ²自衛隊 朝霞駐屯地 歯科, ³中外製薬

骨粗鬆症治療剤として用いられているエルデカルシトール (ELD) は骨吸収抑制作用のほかミニモデリングによる骨形成作用を示すことが明らかにされている。我々は、ELD 投与によるミニモデリングの細胞学的機序を明らかにする目的で、生後 16 週齢偽手術 (Sham) ラットおよび卵巣摘出 (OVX) ラットに、溶媒投与または ELD 投与 (30ng/kg/日, 90ng/kg/日, 5 日/週) を 12 週間に施した後、脛骨のパラフィン切片を用いた HE 染色, TRAP 染色, および, ALP, cathepsin K, sclerostin 免疫組織化学ならびに骨形態計測解析を行った。溶媒投与 OVX ラットでは、同投与 Sham 群に比較して、脛骨骨幹端の骨量および骨梁数が有意に減少した。ところが、ELD 投与 OVX ラットでは、用量依存的に骨量や骨梁数が増加し、溶媒投与 Sham 群と同等、もしくは、それ以上の値を示した。ELD 投与 OVX ラットでは、TRAP/cathepsin K 陽性破骨細胞が小型化し、それらの数も減少した。一方、骨梁に多数の膨隆状の新生骨が認められ、その表面に ALP 陽性活性型骨芽細胞が局在していた。また、このような新生骨と既存骨の間にはアレストラインが認められたことから、新生骨は破骨細胞による骨吸収に依存しないミニモデリングにより形成されたものと推測された。また、既存骨の骨細胞は sclerostin 強陽性を示すのに対し、新生骨に埋め込まれた骨細胞の大部分は sclerostin 陽性反応を示さなかったことから、ミニモデリング部位では、局所的に sclerostin を介した骨芽細胞抑制が解除され、骨形成が誘導されると考えられた。以上より、骨粗鬆症モデルラットにおいて、ELD は sclerostin 抑制を介したミニモデリングを誘導し、骨量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。

Histochemical assessment of minimodeling-based bone formation induced by eldecalsitol in osteoporotic rat model

○Hasegawa T¹, Yamamoto T², Hongo H¹, Sakai S³, Yogo K³, Amizuka N¹

¹Dept Dev Bio Hard, Grad Sch Dent Med, Hokkaido Univ

²Dept Dent, Japan Ground Self-Defense Force, ³Chugai Pharm, Co., Ltd.

In order to clarify the cellular mechanism of minimodeling-based bone formation induced by eldecalsitol (ELD), we have histochemically examined the tibiae of the ovariectomized (OVX) osteoporotic rat model treated by ELD or vehicle. The vehicle-treated OVX rats decreased the BV/TV and Tb. N in the tibial metaphyses compared to those of the vehicle-treated Sham-operated rats. When administered with ELD, both BV/TV and Tb. N of the OVX tibiae increased in a dose-dependent manner, which were demonstrated equal to or higher than in the Sham-treated counterparts. In the ELD-treated OVX rats, TRAP-reactive/cathepsin K-positive osteoclasts were reduced in size and their numbers. ALP-immunopositive mature osteoblasts were located on the focally convex new bones, showing arrest lines between the new and old bones. Therefore, the new bone appeared to be formed by minimodeling but not by bone resorption in ELD-treated OVX rats. In addition, the most osteocytes embedded in the minimodeling-induced new bone didn't show sclerostin-immunoreactivity, while osteocytes in pre-existing bone demonstrated intense sclerostin-immunoreactivity. Therefore, the osteoblastic bone formation, which had been suppressed by sclerostin, may be locally restarted by minimodeling. In conclusion, it seems likely that ELD may induce minimodeling-based bone formation by inhibiting sclerostin synthesis in OVX rats.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-48 骨基質に貯蔵された miR-125b は溶骨性骨転移を抑制する

○Sarmin Nushrat, 南崎 朋子, 吉子 裕二
広大院医歯薬保 硬組織代謝生物

miR-125b accumulated in bone matrix suppresses osteolytic bone metastasis

○Sarmin N, Minamizaki T, Yoshiko Y

Dept Calcif Tissue Biol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

Purpose: Matrix vesicles (MVs) budding from osteoblasts play a key role in bone mineralization, while their additional functions in bone are postulated. Recently we found that MVs conveys a number of microRNAs (miRNAs) from osteoblasts to bone matrix. Of these, we found that miR-125b released from bone matrix inhibits osteoclast formation by targeting the transcription repressor *Prdm1*. Transgenic (Tg) mice overexpressing miR-125b under the control of the human osteocalcin promoter have high bone mass with decreased numbers of osteoclasts. We then hypothesized that miR-125b in bone matrix and/or MVs may affect osteolytic bone metastasis. **Materials & Methods:** We used the mouse osteoblast MC3T3-E1 cells, primary osteogenic cells from fetal rat calvariae, and the human prostate cancer PC-3, human breast cancer MCF-7 and murine mammary carcinoma PY8119 cells. MTT and EdU assays, healing assay, and transwell assay were used to determine the effects of miR-125b mimic and MVs on cell proliferation, migration and invasion, respectively. qRT-PCR was used to quantify miR-125b levels. PY8119 cells tagged with luciferase were injected into wild-type (WT) and Tg mice via the caudal artery, and osteolytic metastasis was evaluated by in vivo bioluminescence imaging, micro-CT, and histological analysis. **Results & Conclusion:** Not only MVs but also miR-125b mimic suppressed cancer cell activities without effects on osteogenic cell proliferation and differentiation. Levels of miR-125b in cancer cell lines were extremely lower than those in MC3T3-E1 cells and MVs. In vivo study revealed that bioluminescence signals were detected as early as day 17 post-injection in WT mice but not in Tg mice. These signals at day 21 post-injection were significantly lower in Tg than WT mice, in proportion to PY8119 cell mass in WT vs. Tg femurs. Osteolytic bone destruction with increased numbers of osteoclasts in PY8119-injected WT mice was more obvious than those in PY8119-injected Tg mice. These data suggest that miR-125b in bone matrix can suppress bone metastasis not only by inhibiting osteoclastogenesis but also by directly suppressing cancer cell activities. Target genes of miR-125b in cancer cells are currently under investigation.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-49 レチノイドがケラチノサイトの角化に及ぼす影響について

○石川 翔子^{1,2}, 北河 憲雄¹, 大谷 崇仁¹, 緒方佳代子¹, 稲井哲一朗¹

¹福歯大 機能構造

²福歯大 矯正

【目的】ビタミンA核内受容体であるRAR, RXRは、RAR/RARヘテロダイマーを形成し、ビタミンA代謝産物であるレチノイドと結合することでケラチノサイトの増殖、分化および角化に影響を与えることが知られている。マウスケラチノサイトのRAR, RXRにはそれぞれ α , β , γ のサブタイプが存在し、RARのうち90%はRAR γ , 10%はRAR α であることが知られている。また、RARとRXRは複合体を形成し作用する。レチノイドの多様性と核内受容体のサブタイプのために角化におけるRARとRXRの作用の詳細については不明な点が多い。そこで、マウスケラチノサイトの三次元培養系にRAR, RXRのアゴニストまたはアンタゴニストを添加し、角化に影響するそれぞれの濃度について検討した。【方法】セルカルチャーインサートの膜上にマウスケラチノサイト由来のCOCA細胞を播種して2週間気液界面培養すると角化重層扁平上皮を形成する。この三次元培養系にRAR, RXRのアゴニストまたはアンタゴニストを添加して2週間後に固定・包埋した。凍結切片をHE染色し、形態学的解析を行った。【結果と考察】AM580 (RAR α ligand)は1 nM, BMS961 (RAR γ ligand)は10 nM, 13-cis-RA (RAR α , RAR γ ligand)は1 nM, 9-cis-RA (RAR, RXR ligand)は10 nM, で角化を抑制したが、Bexarotene (BXRT: RXR ligand)は10 nMでは角化を抑制しなかった。atRA (RAR ligand)は1 nMで角化を抑制した。1 nM atRAにBMS493 (RAR antagonist)またはHX531 (RXR antagonist)を添加すると1 nMで角化が回復した。【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effect of retinoids on keratinization of 3D keratinocyte culture

○Ishikawa S^{1,2}, Kitagawa N¹, Otani T¹, Ogata K¹, Inai T¹

¹Fukuoka Dent Coll, Dept Morphol Biol

²Fukuoka Dent Coll, Oral Growth and Dev

Vitamin A nuclear receptors RAR and RXR are known to form an RAR/RAR heterodimer and to affect keratinocyte proliferation, differentiation and keratinization by binding to the vitamin A metabolite retinoid. However, the details of the effects of RAR and RXR in keratinization are still unclear due to retinoid diversity and nuclear receptor subtypes. Therefore, an agonist or antagonist of RAR or RXR was added to a three-dimensional (3D) keratinocyte culture to determine each concentration affecting keratinization. The 3D mouse keratinocyte (COCA) culture, which forms keratinized stratified squamous epithelium, was fixed after treatment of an agonist or antagonist for 2 weeks. Frozen sections stained with hematoxylin and eosin were examined for morphological analysis. Keratinization was suppressed by 1 nM AM580 (RAR α ligand), 10 nM BMS961 (RAR γ ligand), 1 nM 13-cis-RA (RAR α , RAR γ ligand), and 10 nM 9-cis-RA (RAR, RXR ligand), but not by 10 nM Bexarotene (BXRT: RXR ligand). Keratinization was suppressed by 1 nM all-trans-RA (RAR ligand). The suppressed keratinization by all-trans-RA was restored by further addition of 1 nM BMS 493 (RAR antagonist) or 1 nM HX 531 (RXR antagonist).

Conflict of Interest: The author declares no conflict of interests.

P1-50 網羅的遺伝子解析を用いた高齢マウスの下顎における細胞外マトリックス分解酵素の発現

○影山 曜子^{1,2}, 中村 恵², 猪狩 洋平¹, 山口 哲史¹, 服部 佳功¹, 笹野 泰之²

¹東北大院歯 加齢歯科, ²東北大院歯 顎口腔組織発生

近年、組織の老化に細胞外マトリックス分解酵素の関与が示唆されている。例えば皮膚では、加齢に伴って主要な細胞外マトリックスであるコラーゲンが減少し、それと並行してコラーゲンを分解する matrix metalloproteinases (MMPs)の発現レベルが上昇するとの報告がある。しかし、歯・歯周組織の老化における細胞外マトリックス分解酵素の発現や機能に関する情報は乏しく、その詳細は不明である。そこで、歯・歯周組織の老化に関わる細胞外マトリックス分解酵素の特定を目的とし、定量性に優れた cap analysis of gene expression (CAGE)法を用いて若齢マウスと高齢マウスの下顎における網羅的遺伝子解析を行った。生後 10 週齢(若齢)と 50 週齢(高齢)の C57BL/6 系雄性マウスの下顎を摘出し、皮膚と筋を除去して、歯根・歯根膜・歯槽骨を含む下顎臼歯部を採取した。採取した試料を破砕後、トータル RNA を抽出して CAGE 法による網羅的遺伝子解析を行い、高齢で発現の高い細胞外マトリックス分解酵素を同定した。さらに、Real-time PCR 法を用いて、10 週齢と 50 週齢のマウス下顎臼歯部におけるこれらの細胞外マトリックス分解酵素の mRNA 発現量を調べ、統計学的に比較検討を行った。CAGE 法による解析の結果、発現変動遺伝子は 394 個あり (FDR<0.01)、10 週齢よりも 50 週齢で発現量の高い細胞外マトリックス分解酵素は MMP3, 10, 12 であることがわかった。また、これらの MMPs について Real-time PCR 法で定量解析を行ったところ、MMP3 と MMP10 の mRNA 発現量は 10 週齢より 50 週齢で有意に高かった。MMP12 については、50 週齢で mRNA 発現量が高くなる傾向がみられたものの、統計学的に有意差は認められなかった。以上の結果から、加齢に伴って下顎の MMP3 と MMP10 の発現量が増加し、細胞外マトリックスの分解を亢進することで、歯・歯周組織の老化に関与する可能性が示唆された。(会員外共同研究者:小口綾貴子, 村川泰裕 (理化学研究所))

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Expression of extracellular proteases in the aged mouse mandible using comprehensive gene expression analysis

○Kageyama Y^{1,2}, Nakamura M², Igari Y¹, Yamaguchi S¹, Hattori Y¹, Sasano Y²

¹Div Aging Geriatr Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

²Div Craniofac Dev Tissue Biol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Extracellular proteases (ECPs) have been implicated in senescence. In aged skin, the synthesis of collagens, major extracellular matrix (ECM) proteins, decreases while the expression of matrix metalloproteinases (MMPs) which degrade collagens are elevated. However, the expression and function of ECPs in aged teeth and periodontal tissues remain unknown. Thus, we performed a comprehensive gene expression analysis using cap analysis of gene expression (CAGE) to identify ECPs involved in aging of teeth and periodontal tissues. Mandibles of 10- and 50-week-old mice were excised. Total RNA was extracted from mandibles and CAGE was performed to identify up-regulated genes encoding ECPs, thereafter, we analyzed their mRNA expression levels with real-time PCR. CAGE showed that a total of 394 genes were differentially expressed and the gene expression levels of MMP3, 10, and 12 were higher in aged mice. Real-time PCR indicated that the mRNA expression levels of MMP3 and 10 were significantly higher in aged mice. There was no significant difference in the level of MMP12, although it tended to be higher in aged mice. Our study suggests that increased expression of MMP3 and 10 promotes degradation of ECM with age, which contributes to aging of teeth and periodontal tissues.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-51 Gli1 陽性歯根膜細胞は幹細胞特性を有し、歯槽骨再生に寄与する

○Shakehin Nazmus¹, 細矢 明宏¹, 建部 廣明¹, 溝口 利英², 吉羽 永子³, 吉羽 邦彦⁴, 中村 浩彰⁵, HASAN Md Riasat¹, 入江 一元¹

¹北医大 歯 組織, ²東歯大 口科研, ³新潟大 院医歯 う蝕, ⁴新潟大 院医歯 口腔保健, ⁵松歯大 口腔解剖 II

Gli1-positive periodontal ligament cells possess stem cell properties and contribute to alveolar bone regeneration

○Shelehin N¹, Hosoya A¹, Takebe H¹, Mizoguchi T², Yoshida N³, Yoshida K⁴, Nakamura H⁵, Hasan M¹, Irie K¹

¹Dept Histol, Health Sci Univ Hokkaido, ²Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll, ³Div Cariol Oper Dent Endod, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁴Div Oral Sci Health Promot, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁵Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ

[Purpose] The periodontal ligament contains stem cells that are able to differentiate into osteoblasts, cementoblasts, and fibroblasts. However, the characteristics and distribution of these cells remain uncertain. Gli1, an essential hedgehog signaling transcription factor, functions in undifferentiated cells during embryogenesis. Therefore, in the present study, to characterize the undifferentiated cells in the periodontal ligament, the localization pattern and the differentiation ability of Gli1-positive cells were examined using a lineage-tracing system. [Materials & Methods] (1) Gli1-CreERT2/ROSA26-loxP-stop-loxP-tdTomato (iGli1/Tomato) mice were generated and administrated Tamoxifen for 2 days at 4 and 8 weeks of age. At 0- 28 days after the final administration, the distribution of Gli1/Tomato-positive cells in periodontal tissues was determined. (2) Gli1/Tomato-positive- and Gli1/Tomato-negative-cells were harvested from the periodontal ligament of 8-week-old iGli1/Tomato mice. To analyze whether Gli1-positive cells have clonogenic and multilineage potentials, these cells were subjected to CFU-F and differentiation assays for osteoblasts, chondrocytes, and adipocytes. (3) To observe the differentiation ability of Gli1-positive cells during alveolar bone regeneration, the first maxillary molars of iGli1/Tomato mice, which had received Tamoxifen for 2 days, were extracted and transplanted into the hypodermis of wild-type mice. After 5 and 28 days, the teeth were excised with surrounding connective tissues and processed histologically. [Results & Conclusion] (1) In 4-week-old mice, Gli1/Tomato-positive cells were barely detected in the periodontal ligament, around Endomucin-expressing blood vessels. These cells had proliferated over time, localizing in the periodontal ligament as well as on the bone and cementum surfaces for 28 days. However, in 8 week-old-mice, Gli1/Tomato-positive cells were quiescent, as evidenced by the fact that most cells did not show immunoreactivity for Ki-67. (2) Gli1/Tomato-positive cells in the periodontal ligament exhibited high CFU-F activity and were capable of osteogenic, chondrogenic, and adipogenic differentiation in vitro. In contrast, Gli1/Tomato-negative cells did not show differentiation abilities. (3) At 5 days after transplantation, the tooth root was surrounded by connective tissue and Gli1/Tomato-positive cells were observed only near the tooth root and exhibited Osterix- and Ki67-immunoreactivity. At 28 days, the alveolar bone had been regenerated apart from the tooth root. Tomato florescence indicating progeny of Gli1-positive cells was detected in the osteoblasts and osteocytes of the regenerated bone. In conclusion, Gli1-positive periodontal ligament cells are identified as mesenchymal stem cells with self-renewal ability and trilineage differentiation potential. Our results also suggest that these cells contribute to the formation of periodontal tissue and can regenerate alveolar bone.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-52 アレルギーモデルマウスの骨代謝調節とメカノセンサーチャネルの機能

○高 イキ¹, 曹 愛琳^{1,2}, 吉本 怜子^{1,2}, 合島怜央奈³, 大崎 康吉^{1,2}, 本田 裕子¹,
内野 加穂¹, 西田 寛汰¹, 田原 愛理¹, 城戸 瑞穂^{1,2}

¹佐賀大 医 組織・神経解剖

²九大 院 歯 口腔病理

³佐賀大 医 歯科口腔外科

Mechanosensitive ion channel Piezo2 and inflammation in bone metabolism in allergy model mouse

○Gao WQ¹, Cao AL^{1,2}, Yoshimoto RU^{1,2}, Aijima R³, Ohsaki Y^{1,2}, Honda Y¹, Uchino K¹,
Nishida K¹, Tabaru A¹, Kido MA^{1,2}

¹Dept Anat and Physiol, Saga Med Sch

²Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

³Dept Oral and Maxillofac Surg, Saga Med Sch

Purpose: It is well known that the mechanical loads regulate the bone tissue morphology. Although lots of mechanosensitive molecules have been discovered, there has long been unclear the receptors or membrane proteins which directly convert mechanotransduction. In 2010, non-selective cation Piezo channels have been shown to be activated by mechanical stimuli. Piezo2 has reported to play crucial roles in pulmonary respiration, vasculogenesis and normotension. However, it still has not been clearly demonstrated in bone. In this study, we hypothesize that Piezo2 expresses in bone and has affect bone metabolism. We investigated the underlying mechanism of Piezo2 in inflammatory mice bone. Materials & Methods: Male C57BL/6N mice were intraperitoneally injected with ovalbumin (OVA) and aluminum gel (Alum) sensitization followed by repeated OVA airway-challenges to induce asthma. Control mice were injected phosphate buffered saline. The mice were transcardially perfused with 4% paraformaldehyde. The femurs and lung tissues were dissected out and cut in a cryostat, and then processed for immunostaining. Results & Conclusion: We found that Piezo2 was expressed in osteoblast, osteocyte and osteoclast in the trabecular bone of the femur. Immunostaining showed that Piezo2 was colocalized with the Golgi apparatus maker GM130 in osteoblast. In OVA-injecte mice, bone volume was decreased compared with PBS injected mice. The expression level of Piezo2 was reduced from the bones in allergic model mice compared with controls. Reduced expression of Piezo2 and type I collagen were also found in osteoblast in allergic model mice compared with controls. These results suggest that Piezo2 may play a part in bone metabolisms.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-53 破歯/破骨細胞形成を負に制御する歯髄環境の解析

○西田 大輔¹, 荒井 敦², 宇田川信之³, 中村美どり³, 堀部 寛治⁴, 小林 泰浩⁵,
高橋 直之⁵, 溝口 利英¹

¹東歯大 口腔科学研究セ, ²松歯大 矯正, ³松歯大 口腔生化, ⁴松歯大 口腔解剖, ⁵松歯大
総歯研

【背景】骨の内部の骨髄組織には破骨細胞が存在し、骨の恒常性維持に働く。一方、歯髄組織は象牙質で囲まれているが、破歯細胞(以下、破骨細胞)は存在しない。以上は、歯髄には、破骨細胞の形成を抑制する分子機構が存在することを示唆する。これまで、osteoprotegerin(OPG)が、歯髄組織の破骨細胞形成を抑制することが示された(J Dent Res 94:821, 2015)。本研究は、OPG欠損マウスを用いて、歯髄における破骨細胞の抑制機構を解明することを目的とした。【方法と結果】(1)歯髄における破骨細胞分化調節因子の発現を調べた結果、RANKL、M-CSF、OPGの発現が認められた。(2)酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ(TRAP)およびカタペシンKをマーカーとして、野生型(WT)とOPG欠損マウスの歯髄および歯槽骨における破骨細胞を観察した。その結果、OPG欠損マウスの歯槽骨では、WTマウスよりも多くの破骨細胞が存在した。一方、WTだけでなく、OPG欠損マウスの歯髄組織にも破骨細胞は認められなかった。(3)CD31とVE-カドヘリンを血管マーカーとして、CD45とTer119を血球系細胞マーカーとして用いて、WTマウスの歯髄組織を観察した。その結果、歯槽骨組織全体に豊富な血球系細胞が認められた。一方、歯髄では、血球系細胞の局在は血管内部にのみ認められた。(4)OPG欠損およびWTマウスの臼歯に外部刺激を加え、破骨細胞の出現の有無を調べた。その結果、OPG欠損マウスの歯髄に破骨細胞は出現したが、WTでは出現しなかった。【結論】以上の結果は、正常な歯髄における破骨細胞形成抑制にOPGが関与しないことを示唆する。また、正常な歯髄には、破骨細胞前駆細胞が存在しないことが示唆された。一方、破骨細胞前駆細胞が歯髄に出現する環境下では、OPGが破骨細胞分化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。

Analysis of negatively regulated odontoclast/ osteoclast formation in dental pulp environment

○Nishida D¹, Arai A², Udagawa N³, Nakamura M³, Horibe K⁴, Kobayashi Y⁵, Takahashi N⁵,
Mizoguchi T¹

¹Tokyo Dent Coll, Oral Health Sci Cent, ²Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ, ³Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ, ⁴Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ, ⁵Inst for Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

[Background] Osteoclasts are localized in bone marrow (BM) along the bone surface. In contrast, odontoclasts, hereafter termed osteoclasts, do not exist in dental pulp (DP), which is surrounded by dentin. These observations suggest that there is an inhibitory mechanism of osteoclastogenesis in DP. According to previous studies, osteoprotegerin (OPG) may inhibit osteoclastogenesis in DP (J Dent Res 94:821, 2015). We examined the regulation of osteoclastogenesis in DP using OPG-knock-out (KO) mice. [Methods and Results] (1) The expression of the osteoclast regulatory factors RANKL, M-CSF and OPG was detected in dental tissue. (2) There were more osteoclasts in alveolar bone from OPG-KO than in that from WT, but there were none in DP from WT or OPG-KO. (3) Hematopoietic cells were observed throughout the alveolar BM cavity. However, they were only localized in CD31- and VE cadherin-positive blood vessels in DP. (4) Replantation of the molar induced osteoclastogenesis in DP in OPG-KO, but not in WT. [Conclusion] This study demonstrated that OPG is not related to the inhibitory effects of osteoclastogenesis in DP in the healthy state. As osteoclast precursors do not exist in normal DP, osteoclastogenesis is not induced. On the other hand, OPG exhibited inhibitory effects on osteoclastogenesis when osteoclast precursors migrated to DP.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-54 骨とエナメル質形成における Rogdi の役割

○Mitsui Silvia Naomi, 泰江 章博, 田中 栄二
徳大 院医歯薬 顎顔面矯正

The role of Rogdi during bone and enamel formation

○Mitsui SN, Yasue A, Tanaka E

Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci Dept Orthod Dentofac Orthop

< Purpose > ROGDI mutations have been associated with Kohlschutter-Tonz syndrome. However, the function of ROGDI protein remains unknown. The aim of the present study is to elucidate the role of Rogdi during development. < Material & Methods > Rogdi disrupted mice were generated by targeting the start codon and fifth exon with CRISPR/Cas system. After verification of the correct targeting of the founders, mosaic mice were backcrossed with C57BL/6 mice. Micro-CT, alcian blue-alizarin red staining, calcein labeling and histology were analyzed. < Results > Three different alleles with nonsense mutations in the start codon and one allele with a nonsense mutation in the exon 5 of Rogdi were obtained. All mice in the homozygous condition of these alleles, except one, were smaller with chalky white enamel. Normal phenotype in the mice with a nonsense mutation in the start codon might be due to illegitimate translation. Enamel and bone mineralization were significantly decreased in Rogdi deficient mice. In addition, the head of mutant mice were smaller with mineralization defects in parietal and interparietal bones. Calcein labeling of Rogdi deficient mice enamel did not show the bands of smooth ended ameloblasts observed in the wild-type. < Conclusion > Results suggest that Rogdi plays an important role during enamel and bone formation.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-55 唾液腺の形態形成及び機能発現における p130Cas の役割

○室屋 龍佑¹, 高 靖¹, 中富 千尋³, 藤井 慎介⁴, 清島 保⁴, 自見英治郎^{1,3,5}

¹九大 院歯 口腔細胞工学, ²九大 院歯 口腔顎顔面外科, ³九歯大 分子情報生化, ⁴九大 院歯 口腔病理, ⁵九大 院歯 OBT 研究セ

唾液腺は口腔上皮より発生し、腺房部の分枝形成と導管部の伸長により発達する。唾液腺の細胞分化と分枝形態形成は機能発現に極めて重要であるが、その分子制御機構について未だ不明な点が多い。p130Cas (Crk-associated substrate protein)は成長因子やインテグリンシグナルによって細胞内で様々なタンパク質と複合体を形成するアダプタータンパク質である。我々はこれまでにp130Cas がアクチンの再構成に深く関わっているだけでなく、細胞の極性化に必須であることを報告した。今回我々は、p130Cas flox マウスと K14-Cre マウスを交配し上皮組織特異的 p130Cas 欠損 (p130Cas cKO)マウスを作製し、唾液腺の形態形成および機能発現における p130Cas の生理的役割について検討を行った。ウエスタンブロッティングによりマウスの唾液腺での p130Cas の発現を確認した。野生型マウスと p130Cas cKO マウスの体重に差はなかったが、野生型マウスと比べて、p130Cas cKO マウスでは顎下腺と舌下腺の大きさと重量が小さかった。野生型および p130Cas cKO マウスの顎下腺及び舌下腺の組織学的解析を行ったところ、p130Cas cKO マウスでは顎下腺の腺房部と顆粒性導管部の数の減少が見られたが、舌下腺に関しては差が認められなかった。さらに、マウスの顎下腺を用いて免疫蛍光染色を行ったところ、p130Cas cKO マウスでは腺房細胞のマーカーである Aquaporin-5 の管腔側細胞膜への局在の異常が観察され、腺房細胞の極性の異常が起こっていると考えた。また、p130Cas cKO マウスでは唾液分泌量も減少していた。以上の結果より p130Cas が唾液腺の機能発現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 physiological role of p130Cas in salivary gland development and function

○Muroya R¹, Gao J¹, Nakatomi C³, Fujii S⁴, Kiyoshima T⁴, Jimi E^{1,3,5}

¹Kyushu Univ Grad Sch Dent Sect Mol Cell Biochem, ²Kyushu Univ Grad Sch Dent Sect Oral Maxillofac Surg, ³Kyushu Dent Univ Div Mol Signal Biochem, ⁴Kyushu Univ Grad Sch Dent Sect Oral Pathol, ⁵OBT Res Cent Kyushu Univ Grad Sch

Branching morphogenesis and cell differentiation of the salivary glands are extremely important for acquiring their function, but the molecular mechanism is still unclear. p130Cas (Crk-associated substrate protein) is an adapter protein that forms a complex with various proteins in cells by growth factors and integrin signals. Previously we reported that p130Cas was involved in the actin regeneration and is essential for polarizing in cells. In this study, we examined the physiological role of p130Cas in salivary gland development and function. We generated epithelial tissue-specific p130Cas deficient (p130Cas cKO) mice by crossing p130Cas^{fl/fl} mice with K14-Cre mice. The expression of p130Cas protein in salivary gland was confirmed by immunoblotting. The size and weight of submandibular and sublingual glands was lower in p130Cas cKO mice compared with WT mice although there was no difference in the body weight. Histological analysis showed reduced number of acinar and granular convoluted tubule of the submandibular gland in p130 Cas cKO mice. Furthermore, localization of Aquaporin-5 disturbed in the submandibular gland, suggesting that the polarity of the acinar cells was disordered. Moreover, the secretion of saliva was decreased in p130 Cas cKO mice. Taken together, p130Cas may be involved in the function expression of salivary gland.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-56 重症乳児型低ホスファターゼ症の顎骨および歯に対する TNALP 高発現遺伝子治療

○棚瀬 稔貴¹, 高橋 有希², 新谷 誠康¹, 笠原 正貴²

¹東歯大 小児歯

²東歯大 薬理

低ホスファターゼ症 (hypophosphatasia; HPP) は組織非特異的アルカリホスファターゼ遺伝子 (TNALP) の変異により生じる先天性疾患である。症状としては、骨の石灰化不全と乳歯の早期脱落などがある。我々は、アデノ随伴ウイルス (adeno-associated virus; AAV) ベクターによる遺伝子治療を検討し、延命効果を得ることに成功したが、下顎骨の伸長不全、石灰化不全およびセメント質の欠如などの治癒不全が確認された。そこで本研究の目的は、下顎骨および歯に対する治癒不全が改善可能な至適 AAV ベクター投与量を検討することとした。出生 1 日齢の HPP マウスに、骨親和型 TNALP を強発現できるよう構築した治療用 AAV8 ベクター 1.5×10^{11} vector genome (v. g.)/body (1.5-Treated) と 4.5×10^{12} v. g./body (4.5-Treated) を左右大腿四頭筋へ筋肉注射した。90 日後に下顎骨の放射線画像解析、組織学的解析を行った (n=5)。下顎骨のエックス線画像解析では、下顎骨高径において 4.5-Treated は 1.5-Treated に比べて有意に長かった ($p < 0.05$)。下顎骨のマイクロ CT 解析では第一臼歯全長と歯根長において、4.5-Treated は 1.5-Treated に比べて有意に長かった ($p < 0.001$)。また組織学的解析では、4.5-Treated はセメント質の形成が認められたものの 1.5-Treated ではセメント質の形成は認められなかった。以上の結果から 1.5-Treated と比べ 4.5-Treated では顎骨および歯の形態不正の改善が確認された。このことから、至適量 TNALP を補充することで、重症乳児型 HPP 患者の QOL の向上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。

Improved structure of the mandibular bone and teeth on lethal hypophosphatasia in mice by high level expression of bone targeted alkaline phosphatase treatment

○Tanase T¹, Nakamura-Takahashi A², Shintani S¹, Kasahara M²

¹Dept Pediatr Dent, Tokyo Dent Coll

²Dept Pharmacol Dent, Tokyo Dent Coll

Hypophosphatasia (HPP) is an inherited disease caused by mutations in the gene encoding tissue-nonspecific alkaline phosphatase (TNALP). Symptoms include bone hypocalcification and early loss of primary teeth. In this study, we evaluated the therapeutic effects of 4.5×10^{12} vector genome (v. g.)/body induced by an adeno-associated virus (AAV) vector intramuscularly injected on the mandibular bone and teeth of HPP model mice. HPP model mice were intramuscularly injected immediately after birth with an AAV8 vector expressing bone-targeted TNALP (AAV8-TNALP-D10) at 1.5×10^{11} v. g./body (1.5-Treated) and 4.5×10^{12} v. g./body (4.5-Treated), mice were sacrificed at 90 days of age for radiological image analysis and histological analysis of the mandibular bone (n=5). X-ray photography analysis of the mandibular height of 4.5-Treated revealed that it was significantly higher than that of 1.5-Treated ($p < 0.05$). Similarly, in the micro-computed tomography analysis, the tooth length of the first molar of 4.5-Treated was significantly longer than 1.5-Treated ($p < 0.001$). Histological analysis showed that defects of cementum were observed in 1.5-Treated, while 4.5-Treated showed normal formation of cementum. These results suggest that this strategy of the gene therapy can be promising for the treatment of the jawbone and teeth abnormalities of HPP.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-57 CLEC-2 による頭蓋冠骨芽細胞の石灰化抑制

○高良 憲洋¹, 梶原弘一郎², 藤田 隆寛², 坂上 竜資³, 沢 禎彦⁴, 小島 寛¹

¹福歯大 成長発達 障害歯, ²福歯大 成長発達 矯正, ³福歯大 口腔治療 歯周, ⁴岡大院医歯薬 口腔機能解剖

本研究は、川本法（無脱灰凍結切片作製法）・キーエンス顕微鏡ならびに共焦点レーザー顕微鏡を用いて Col1 プロモーター・エンハンサー駆動 Cre レコンビナーゼ (Col1-Cre;Pdpn Δ) コンディショナルノックアウトマウスの象牙質および骨の形成を検索した。結果、Col1a11-Cre;Pdpn Δ マウスの切歯象牙質および歯槽骨には異常が見られなかった。同様に、Col1a11-Cre;Pdpn Δ の尾骨には肉眼的な異常はないが、Col1a11-Cre;Pdpn Δ マウスは Pdpn フロックスマウス (Pdpnfl) より体長が有意に小さい。石灰化は、Pdpnfl 由来の頭蓋冠骨芽細胞において CLEC-2 によって抑制されたが、Col1a11-Cre;Pdpn Δ 由来の頭蓋冠骨芽細胞においては CLEC-2 によって抑制されなかった。また、Pdpnfl 由来の頭蓋冠骨芽細胞の石灰化生成物の量およびアルカリホスファターゼ活性の両方とも、1 μ g/ml および 0.1 μ g/ml の CLEC-2 を含む石灰化培地において、CLEC-2 を含まない石灰化培地におけるよりも有意に少なかった。Pdpnfl 由来の頭蓋冠骨芽細胞の石灰化生成物の量およびアルカリホスファターゼ活性は、1 μ g/ml よりも 0.1 μ g/ml の CLEC-2 を含む石灰化培地においてどちらも有意に大きかった。CLEC-2 (nil, 0.1, and 1 μ g/ml) を含む石灰化培地中の Col1a11-Cre;Pdpn Δ からの頭蓋冠骨芽細胞の石灰化生成物の量およびアルカリホスファターゼ活性に有意差はなかった。CLEC-2 は血小板上のポドプラニンの受容体であるため、血小板 CLEC-2 はポドプラニンを発現する成熟骨芽細胞上のポドプラニンへの結合を介して石灰化を抑制することができる。これらは、ポドプラニンが象牙芽細胞の石灰化に寄与している可能性が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。

CLEC-2 suppresses calcification in calvarial osteoblasts

○Takara K¹, Kajiwara K², Fujita T², Sakagami R³, Sawa Y⁴, Kojima H¹

¹Div Dent Disabled Fukuoka Dent Coll, ²Div Orthodont Fukuoka Dent Coll, ³Div Periodontol Fukuoka Dent Coll, ⁴Dept Oral Funct Anat Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

We investigated the dentin and bone formation in podoplanin-conditional knockout mice by the Col1 promoter and enhancer-driven Cre recombinase (Col1-Cre;Pdpn Δ) by the Kawamoto-method and laser microscopy. There are no abnormalities in the formation of alveolar bone or dentin in incisors of Col1a11-Cre;Pdpn Δ . The calcification were suppressed by CLEC-2 in the calvarial osteoblasts from of Pdpnfl whereas not suppressed by CLEC-2 in the calvarial osteoblasts from Col1a11-Cre;Pdpn Δ . Both amounts of calcified products and alkaline phosphatase activity of calvarial osteoblasts from Pdpnfl were significantly lesser in the calcification medium with 1 μ g/ml and 0.1 μ g/ml of CLEC-2 than in the calcification medium without CLEC-2. Both amounts of calcified products and alkaline phosphatase activity of calvarial osteoblasts from Pdpnfl were significantly larger in the calcification medium with 0.1 μ g/ml of CLEC-2 than with 1 μ g/ml of CLEC-2. There were no significantly differences in the amounts of calcified products and alkaline phosphatase activities of calvarial osteoblasts from Col1a11-Cre;Pdpn Δ in the calcification medium with CLEC-2 (nil, 0.1, and 1 μ g/ml). These suggest that podoplanin may contribute to the calcification in odontoblasts. Since the CLEC-2 is only a receptor of podoplanin on platelets, platelet CLEC-2 may suppress the calcification via binding to podoplanin on the matured osteoblasts expressing podoplanin.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-58 クローニングマラッセ上皮遺残細胞の特性解析

○Islam Syed Taufiqul, 袁輪映里佳, 野呂 大輔, 倉重 圭史, 齊藤 正人
北医療大 歯 小児歯

Analysis the characteristics of epithelial rests of Malassez cloning cells

○Islam T, Minowa E, Noro D, Kurashige Y, Saitoh M
Div Pediatr Dent, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

Purpose: After late bell stage of tooth development inner enamel epithelium and outer enamel epithelium merge together to form Hertwigs epithelial root sheath (HERS) which later disintegrates to form epithelial cell rests of Malassez (ERM). Therefore, ERM may show variations in their functional activities. The identification those functional and morphological variations is important to understand the role of ERM in the periodontal space. In this study, we established clone cells derived from ERM by single cell limiting dilution method and analysed the characteristics of these ERM cloning cells to clear about the role of amelogenin in calcification.

Materials and Methods: Cloning: ERM cells were isolated from porcine periodontal ligament by outgrowth method, from which a number of cloned ERM cell were obtained through single limiting dilution method.

Proliferation assay: Growth rate was assessed by CyQUANT cell proliferation assay kit at 10^3 cell/ml for 7 days.

Immunofluorescence and Immunocytochemistry: Each cloned ERM cell was checked for epithelial marker CK-wide and odontogenic epithelial marker Cytokeratin-19.

Realtime RT-PCR: Quantification of amelogenin mRNA was evaluated by Realtime RT-PCR.

Western blot analysis: Quantification of amelogenin protein was done by western blot technique.

Mineralization assay: Gingival epithelial, CRUDE ERM and cloned ERM cells were co-cultured with MC3T3-E1 for 30 days and Hydroxyapatite crystal formation was quantified by Osteomage™.

Alkaline phosphatase activity: ALP activities was measured from precipitated alizarin red stains after co-culturing by a plate reader at 405nm absorbance with Labassay™.

RT-PCR: RT-PCR was done to check the expression of p75 gene.

The statistical significance of the difference was analysed using One-way ANOVA and Scheffes test.

Results: All the cells stained positive for Cytokeratin wide and Cytokeratin-19 and all of them also expressed p75. The isolated number of cloned cells from CRUDE ERM was 18. From them, 3 types of cloned ERM were selected for further experiment by visual inspection and proliferation assay. Even though ERM exists as a single population cell but individual cloned ERM cells exhibited high and low expression of amelogenin. Cells with low proliferation showed high amelogenin expression and calcification where else cells with high proliferation showed low amelogenin expression and calcification.

Conclusion: To our knowledge this is the first time to isolate clone cells from CRUDE ERM and to demonstrate functional and morphological variations among them.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-59 骨発生におけるメカノセンサーチャネルの発現と機能

○西田 寛汰¹, 高 イキ¹, 曹 愛琳^{1,2}, 田原 愛理¹, 本田 裕子¹, 内野 加穂¹,
大崎 康吉¹, 城戸 瑞穂^{1,2}

¹佐賀大 医 組織・神経解剖

²九大 院歯 口腔病理

【目的】脊椎動物における骨の発生には特定の様式が存在し、そのうち長骨は軟骨内骨化とよばれる過程により形成される。この軟骨内骨化では骨幹の中央部にて血管が進入し、そこから運ばれる骨芽細胞や破骨細胞などによって軟骨が骨組織に置換することで骨が形成される。近年、骨軟骨移行部や骨の発生における血管新生に関わる特定の血管が報告され、その動態が骨形成および骨減少に関わることが注目されている。そこで、本研究では血管新生が力学的な事象であることに着目し、発生期の軟骨内骨化における血管新生と骨形成にメカノセンサーチャネルが関連すると想定し実験を行った。【方法】胎生期および新生期の C57BL/6N マウスを 4%パラホルムアルデヒドリン酸緩衝液で固定した後、後肢を採取した。通法に従って凍結切片を作製し、メカノセンサーチャネルおよび骨特異的血管のマーカー分子群に対する抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡により観察を行った。【結果】胎生 14.5 日齢の大腿骨軟骨および軟骨膜にメカノセンサーチャネルが発現していた。さらに 15.5 日齢では顕著な血管進入が認められ、進入の先端領域の血管内皮細胞にメカノセンサーチャネルの強い発現がみられた。さらに、軟骨膜直下にはメカノセンサーチャネル陽性の骨芽細胞、破骨細胞が配列し、アクチンフィラメントとの関連が認められた。これらより、メカノセンサーチャネルが骨発生時期における血管の進入および骨の形成に関与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。

Mechanosensitive ion channels in bone development

○Nishida K¹, Gao WQ¹, Cao AL^{1,2}, Tabaru A¹, Honda Y¹, Uchino K¹, Ohsaki Y¹,
Kido MA^{1,2}

¹Dept Anat Physiol, Saga Med Sch

²Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Purpose: Endochondral bone formation, a process by which most long bones are formed, involves the formation of a cartilage intermediate that is then converted into bone. Following chondrocyte hypertrophy, perichondrial osteoblast precursors, endothelial and hematopoietic cells and osteoclasts migrate into primary ossification centers. Recently, a specific capillary subtype has been reported to play an important role in the developmental bone formation and osteopenia. As blood vessel formation is assumed as one of the dynamic mechanical cues, we explored the expression of mechanosensitive ion channels in the process of bone formation. **Methods:** C57BL/6N mouse embryos and neonates were fixed in 4% paraformaldehyde. Dissected limbs were sectioned by cryostat and were processed for immunostaining with specific antibodies for mechanosensitive ion channels and endothelial cell markers. **Result and Conclusion:** At embryonic day (E) 14.5, vascularization of murine femur is initiated as reported previously. We found blood vessels entered into the avascular cartilage at E15.5 with the immunoreactivities for mechanosensitive ion channels. Mechanosensitive ion channels were observed in the chondrocytes and endothelial cells with distinct filamentous actin. It is suggested that the mechanosensitive ion channels may play a part in angiogenesis and osteogenesis.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-60 バイオフィルム形成阻害に着目した新しいう蝕予防法の開発

○有田 (森岡) 健一, 永尾 潤一, 成田 由香, 安松香奈江, 田崎 園子, 長 環,
田中 芳彦

福歯大 感染生物

バイオフィルムは、細菌が産生する細胞外構造体に覆われているため、抗生物質や宿主免疫に耐性になり、慢性感染症の原因となっている。口腔内の2大感染症の一つであるう蝕(虫歯)は、う蝕原性菌のバイオフィルム形成と深く関わっている。従って、う蝕原性菌のバイオフィルム形成を効率的に阻害することは、う蝕の予防法、治療法に繋がると考えられる。我々は、う蝕原性菌のバイオフィルム形成を予防する方法として微生物学的なアプローチと免疫学的なアプローチの二つの方法を検証している。一つ目の微生物学的なアプローチからう蝕原性菌のバイオフィルム形成を予防する方法では、これまでに我々が見出している細菌のバイオフィルム形成を効率的に阻害できる低分子化合物⁽¹⁾⁽²⁾を用いて、う蝕原性菌のバイオフィルム形成を阻害できるか検証を行った。二つ目は免疫学的なアプローチからバイオフィルム形成を阻害する方法である。免疫学的なアプローチからう蝕原性菌のバイオフィルム形成を予防するには、分泌型IgAなどの生体内の防御因子を増やすことが重要であると考えられる。特に、ヘルパーT細胞依存的である抗原特異的な分泌型IgA抗体が、特定の病原微生物を標的とする粘膜免疫応答では重要な役割を担っている。そこで、う蝕原性菌特異的なIgA抗体を産生させるため、クラススイッチを引き起こすう蝕原性菌コンポーネントの同定を目的として、う蝕原性菌の抗原分画を絞り込んだ。(1) Arita-Morioka et al. Antimicrob. Agents Chemother. 2015 (2) Arita-Morioka et al. Sci. Rep. 2018

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Novel method for caries prevention focusing on bacterial biofilm formation

○Arita-Morioka K, Nagao J, Narita Y, Yasumatsu K, Tasaki S, Cho T, Tanaka Y

Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll

Biofilms are well-organized sessile communities of microbes embedded in a self-produced extracellular matrix. These cells acquire increased tolerance against antimicrobial agents and host immune systems. The most common infections of the oral cavity, known as dental caries, are closely related to biofilm formation of cariogenic bacteria. Therefore, the reduction of stable biofilm formation is an effective way to prevent dental caries. We used two approaches to prevent cariogenic bacterial biofilm formation. First, we tested the ability of small compounds to prevent cariogenic bacterial biofilm formation. We found the small compound inhibit biofilm formation in a dose dependent manner. In addition, secretory immunoglobulin A (IgA) antibodies are the first line of mucosal defense against pathogenic bacteria. Especially, helper T cells promote affinity-matured pathogenic bacteria specific IgA responses. We fractionated cariogenic bacterial cells into cellular components for narrowing down the cariogenic bacterial antigens which cause T cell dependent B cell class switch response. We have obtained some interested result about the cariogenic bacterial antigens related to T cell dependent B cell class switch response and IgA productions.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-61 肺炎球菌感染マウスに対するヒノキチオールの治療効果

○磯野 俊仁^{1,2}, 永井 康介¹, 土門 久哲¹, 前川 知樹^{1,3,4}, 日吉 巧^{1,4}, 野村由一郎², 國友 栄治⁵, 寺尾 豊^{1,3}

¹新潟大 院医歯 微生物, ²新潟大 院医歯 う蝕, ³新潟大 院医歯 高口セ, ⁴新潟大 院医歯 歯周病, ⁵小林製薬 中央研

【背景と目的】肺炎球菌はヒトの口腔や咽頭に常在することがあり、高齢者等の易感染性宿主において誤嚥性肺炎を含めた肺炎を引き起こす。細菌性肺炎の治療は、主に抗菌薬の投与により行われているが、近年、不適切な抗菌薬の使用による薬剤耐性肺炎球菌の増加と難治化が問題となっている。したがって、国の定める薬剤耐性アクションプランにおいて、既存の抗菌薬に依存しない、新たな肺炎治療法の開発が急務とされている。当研究室では、植物由来成分であるヒノキチオールが、*in vitro*において肺炎球菌を殺菌することを明らかにしている。本研究では、肺炎球菌性肺炎モデルマウスにヒノキチオールを投与し、その感染制御作用について解析した。【方法】8週齢 BALB/c マウスの気管支に、マイクロスプレイヤーを用いて肺炎球菌 D39 株 (1×10^9 CFU, 2 型) を感染させた。感染から 1 時間後に、ヒノキチオール (50 μ L; 1 μ g/ μ L) を気管支内へ噴霧した。感染 18 時間後に、麻酔下にてマウスを屠殺し、サンプルとして肺胞洗浄液、血液、および肺を採取した。肺胞洗浄液および血液中の肺炎球菌は、コロニーカウント法ならびに real-time PCR 法にて計測し、ヒノキチオールの殺菌効果について解析した。また、各サンプルにおける炎症性サイトカインの転写および濃度は、real-time PCR 法ならびに ELISA 法にて定量した。【結果と考察】ヒノキチオール投与群では、肺胞洗浄液、および血液中の肺炎球菌検出数が非投与群より有意に少なかった。また、ヒノキチオール投与群では、肺組織および肺胞洗浄液中の各種炎症性サイトカイン転写量およびタンパク濃度が、非投与群より有意に小さかった。以上の結果から、ヒノキチオールはマウス組織内において肺炎球菌を殺菌し、宿主の過剰な炎症応答を抑制することが示された。すなわち、肺炎治療薬としてのヒノキチオールの可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にあります。

Therapeutic effect of hinokitiol on pneumococcal infection of mice

○Isono T^{1,2}, Nagai K¹, Domon H¹, Maekawa T^{1,3,4}, Hiyoshi T^{1,4}, Noiri Y², Kunitomo E⁵, Terao Y^{1,3}

¹Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Div Cariol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ³Res Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁴Div Periodontol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁵Central R&D Lab, Kobayashi Pharma

Objectives: *Streptococcus pneumoniae* is a leading cause of bacterial pneumonia. Although antibiotics are the primary treatment for pneumonia, antimicrobial resistance among *S. pneumoniae* has increased in past decades. Our previous study showed that hinokitiol, which is isolated from Cupressaceae, has antibacterial activity against *S. pneumoniae* *in vitro*. In this study, we examined the effect of hinokitiol on the murine model of intratracheal pneumococcal infection. Materials & Methods: Male 8-week-old BALB/c mice were infected intratracheally with *S. pneumoniae* strain D39 (1×10^9 CFU, serotype 2) by using the MicroSprayer Aerosolizer (Penn-Century Inc.). One hour later, hinokitiol (50 μ L; 1 μ g/ μ L) was injected to the mice via the tracheal route. After 18 h of injection, bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were spread onto blood-agar plates and cultured aerobically for bacterial counts. Real-time PCR and ELISA analyses were performed to quantify the transcription and the production of inflammatory cytokines in the lung. Results & Conclusion: Hinokitiol significantly indicated bactericidal effects against *S. pneumoniae* in the murine BALF and blood. In addition, the concentration of inflammatory cytokines was lower in the BALF of hinokitiol injection mice compared with control group. These findings suggest that hinokitiol could be a candidate for treatment of pneumococcal pneumonia.

Conflict of Interest: The authors have conflict of interests.

P1-62 *Porphyromonas gingivalis* の 30.1 型 CRISPR とインプラント周囲炎細菌叢の遺伝子発現の関係

○渡辺 孝康¹, 芝 多佳彦², 中野 善夫¹

¹日大 歯 化学

²医科歯科大 院医歯 歯周病

歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* は、細菌の獲得免疫を担うとされる clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) をゲノム上に有している。CRISPR は近傍の遺伝子群 (*cas*) と協働して、一般にファージやプラスミドなどの外来性因子を CRISPR 内にスペーサーとして記憶し、再侵入した外来生因子の核酸を切断する機能を有する。一方、先行研究では *P. gingivalis* の CRISPR スペーサーの大部分は、外来性因子ではなく *P. gingivalis* のゲノム配列と類似性が高く、一般の獲得免疫とは異なる機能を有すると考えられた。しかし、先行研究は単離株のゲノム情報を根拠としているため、口腔において実際にそのような対応関係をスペーサーと免疫対象とが示しているかは不明である。本研究では、*P. gingivalis* 51 株を含む *Porphyromonas* 属細菌 107 株の 30.1 型 CRISPR のスペーサー 1,561 個について、その免疫対象を、公共データベース内のインプラント周囲炎細菌叢の細菌 RNA 配列中において検索した。Blastn 検索にて、クエリ・対象配列ともに 20-bp 以上の一致を示した検索結果のみ抽出した。99,360 本の RNA 配列のうち 452 本が、1,561 個中 250 個のスペーサーと一致を示した。この 452 本のうち、*P. gingivalis* のゲノムと $e\text{-value} \leq 1e-5$ にて類似性を示した配列は 15 本のみであった。以上より、*P. gingivalis* は口腔内において、一般の獲得免疫ならびに自己のゲノムを対象とした機能以外にも、他の細菌の RNA を対象とした未知の機能を有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。

Association of *Porphyromonas gingivalis* CRISPR type 30.1 with gene expression in the peri-implantitis microbiota

○Watanabe T¹, Shiba T², Nakano Y¹

¹Dept Chem, Nihon Univ Sch Dent

²Dept Periodontol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent

Porphyromonas gingivalis has an array of clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPRs) in its genome. A CRISPR array has a canonical function to partially keep nonself nucleic acids as a spacer and interfere their introduction, with the genes adjacent to the array (*cas*). On the other hand, our previous study showed that most of the CRISPR spacers of *P. gingivalis* exhibited high similarity with not the exogenous DNA but *P. gingivalis* own genomes, suggesting another non-canonical function of CRISPR. However, actual correspondence between the CRISPR spacers and their targets are still unknown. In this study, 1,561 spacers of CRISPR type 30.1 in the genus *Porphyromonas* were searched for their potential targets against the RNA-seq data of peri-implantitis microbiota in a public database. Of 99,360 RNA sequences, 452 reads were partially identical to 250 of 1,561 spacers. Only 15 of 452 reads exhibited similarity with *P. gingivalis* genomes. Taken together, *P. gingivalis* is suggested to have an unknown function of CRISPR against nonself bacterial RNA, as well as the canonical acquired immunity and non-canonical function against the self DNA.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-63 口腔カンジダ症を制御する Th17 細胞応答を誘導する T 細胞抗原探索

○田崎 園子^{1,2}, 長 環¹, 永尾 潤一¹, 有田 (森岡) 健一¹, 成田 由香¹,
安松香奈江¹, 小島 寛², 田中 芳彦¹

¹福歯大 機能生物化学 感染生物

²福歯大 成長発達 障害者歯

Candida albicans (*C. albicans*) は健常なヒトの皮膚・粘膜・腸管などに存在する常在真菌であるが、生体防御能の低下した易感染宿主に対しては口腔カンジダ症を引き起こす病原体となる。*C. albicans* に対する免疫応答には IL-17A を産生するヘルパー T 細胞の一種である Th17 細胞が重要な役割を果たし、Th17 細胞を欠くマウスでは口腔カンジダ症の病態が悪化することが知られているが、その病態制御機構については未だ不明な点が多い。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となっている。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。そこで、本研究では *C. albicans* に対する新しい治療戦略を構築するために、Th17 細胞の分化を司る *C. albicans* 由来の抗原を特定することを目的としている。これまで我々は *C. albicans* に対する T 細胞特異抗原を探索する過程で、*C. albicans* 菌糸形細胞の膜画分がマウスナイーブ CD4⁺T を強く Th17 細胞へ分化誘導することを見出している。さらに口腔カンジダ症モデルマウスを用いて、菌糸形細胞膜画分タンパク質で刺激したナイーブ CD4⁺T 細胞を移入したマウスは、対照群と比較して口腔カンジダ症の発症が抑制されることを見出した。現在 *C. albicans* 菌糸形細胞膜画分タンパク質を HPLC、2次元電気泳動などを用いて精製し、Th17 細胞分化誘導能を指標として抗原のタンパク質の絞り込みを進めている。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Identification of T cell antigens to induce Th17 cell in oral candidiasis

○Tasaki S^{1,2}, Cho T¹, Nagao J¹, Arita-Morioka K¹, Narita Y¹, Yasumatu K¹, Kojima H²,
Tanaka Y¹

¹Sect Infect Biol, Dept Funct Biosci, Fukuoka Dent Coll

²Sect Dent for the Disability, Dept Oral Growth and Dev, Fukuoka Dent Coll

Candida albicans is a commensal fungus in human skin, oral cavity and gastrointestinal of healthy individuals but causes an opportunistic fungal infection in immunocompromised patients. It is known that Th17 cells exhibit protective role against mucosal infection with *C. albicans*. However, specific T-cell antigens determining the differentiation of antifungal Th17 cells remain largely unknown. In this study, we focus on finding the novel T cell antigens of *C. albicans* recognized by the T cell receptor of CD4⁺ T cells based on Th17 differentiation. We prepared cellular components including cytosol, membrane, and cell wall from each yeast and mycelial cells. We found that proteins derived from a membrane fraction of mycelial cells effectively induced differentiation of CD4⁺ T cells to Th17 cells. We further demonstrated that adoptively transferred Th17 cells that were ex vivo stimulated with the mycelial membrane proteins prevented oral candidiasis in a mouse model. These data suggest that effective T cell antigens against candidiasis could be present in the membrane proteins fraction of mycelial cells of *C. albicans*. We further separated the membrane proteins of mycelial cells by high performance liquid chromatography and evaluated their ability to induce Th17 differentiation.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-64 S-PRG フィラーの *Candida albicans* 病原因子の抑制効果と臨床応用の可能性

○河野 由^{1,2}, 田村 宗明^{3,4}, 今井 健一^{3,4}

¹日大院歯 口腔構造機能, ²日大 歯 口外, ³日大 歯 細菌, ⁴日大 総歯研 生体防御

【目的】高齢者では免疫機能が減弱や口腔清掃状態の劣化によるう蝕や歯周病罹患率の上昇などから口腔環境の改善およびその維持が重要となる。*Candida albicans* は口腔内で最も優勢な真菌で、日和見感染症や菌交代症の起原因菌である。この真菌は加齢とともに口腔内検出率が上昇するとともに、高齢者で装着率の高い義歯床のレジンと強固に付着することから、高齢者のための新たな抗真菌作用を有する歯科材料の開発が急務である。S-PRG フィラーは6種のイオンを放出するリチャージが可能なバイオアクティブマテリアルである。今回、S-PRG フィラーの *C. albicans* の病原因子抑制効果と臨床応用への可能性について検討した。【方法】S-PRG フィラー含有義歯床用レジンと、フィラーより放出したイオン水をサンプルとし、供試菌株は *C. albicans* NUD202 株と ATCC18804 株を用いた。付着能への影響は、S-PRG フィラー含有義歯床用レジンと各菌液で処理し、付着菌数を CFU で算定した。また、タンパク分解酵素の分泌型アスパルチルプロテアーゼ活性への影響は、イオン水添加培地で培養した上清内の活性と、細胞内の酵素産生に関連する mRNA の発現量を測定した。さらに、イオン水が供試菌株に及ぼす酸化ストレスについて調べた。一方、S-PRG フィラー含有の PRG プロケアジェルの発育抑制効果を改良型寒天拡散法で検討した。【結果および考察】S-PRG フィラー含有レジンに添加濃度に依存して *C. albicans* の付着を阻害した。イオン水の濃度依存的に酵素活性の阻害と関連する mRNA 発現量は減少するとともに、細胞内の酸化ストレスを確認した。PRG プロケアジェルは *C. albicans* に対して良好な発育抑制効果を示した。これらの結果から、S-PRG フィラーは *C. albicans* に抗菌効果を示し、臨床応用の可能性が示唆された。(学会会員外協力者 日本大学歯学部口腔外科学講座 外木守雄, 株式会社松風 中塚稔之) 【利益相反】利益相反状態にはありません。

Suppressive effect of *Candida albicans* pathogenic factor of S-PRG filler and possibility of clinical application

○Kono Y^{1,2}, Tamura M^{3,4}, Imai K^{3,4}

¹Div Oral Struct Funct Sci Nihon Univ Sch Dent Grad Sch Dent, ²Dept Oral Surg Nihon Univ Sch Dent, ³Dept Microbiol Nihon Univ Sch Dent, ⁴Div Immunol Pathobiol Res Cent Nihon Univ Sch

Improvement and maintenance of the oral environment is important among the elderly. *Candida albicans* is the most prevalent fungus in the oral cavity and has a high detection rate within the oral cavity relative to age and firmly adheres to the denture base resin with high wearing rate among the elderly. Thus, the development of new antifungal dental material for elderly is urgently needed. In this study, we investigated the inhibitory effect of S-PRG filler, which is a bio-active material, on *C. albicans* pathogenic factors and the possibility of clinical application of this material. Denture base resin containing S-PRG filler and ionic water released from the filler were used as samples. Two *C. albicans* strains were used as test strains. Using these, we examined the effect on adhesion ability and proteolytic enzyme activity. Furthermore, the effect of PRG Pro-Cate Gel was examined by the modified agar diffusion method. The S-PRG filler and released ion water showed an inhibitory effect in a concentration-dependent manner. These results indicated that S-PRG filler has an antibacterial effect on *C. albicans* and, moreover, it suggested the possibility of clinical application. **Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest.

P1-65 インフラマソーム活性に対するオメガ3系脂肪酸の影響

○川野 亜希¹, 有吉 渉¹, 吉岡 香絵¹, 山崎 亮太¹, 沖永 敏則²

¹九歯大 感染分子生物

²大歯大 細菌

マクロファージは、外的因子の生体内侵入に際し防御的役割を担うと同時に、細菌由来の構成成分などに反応して、炎症性サイトカインを産生する。その炎症反応の調節において、タンパク質複合体であるインフラマソームが関与している。近年、オメガ3系脂肪酸（DHA や EPA）が、抗炎症作用を有することが報告されている。我々は、これまでにグラム陰性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することを報告した。そこで今回、細菌が誘発するインフラマソーム活性に対するオメガ3系脂肪酸の影響について検証した。グラム陰性細菌 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Y4 株を用いて、ヒトマクロファージ様 THP-1 細胞に対して侵入実験を行った。遺伝子発現は real-time RT-PCR, タンパク発現は Western blotting および ELISA を用いて解析を行った。ノックダウン細胞は、エレクトロポレーション法を用いて siRNA を導入し作製した。THP-1 細胞において、*A. actinomycetemcomitans* は、IL-1 β の産生を伴う細胞死であるピロトーシスを誘導した。siRNA ノックダウン実験により、カノニカルインフラマソームの主要因子である NLRP3, ASC, Caspase-1 活性化, ノンカノニカル経路と報告されている Caspase-4 およびピロトーシス関連因子 Gasdermin D が、IL-1 β の細胞外分泌に関与していることが明らかになった。DHA 前刺激により、*A. actinomycetemcomitans* が誘導する ASC や caspase-4 の発現抑制を介して、インフラマソーム活性およびピロトーシスが抑制された。以上の結果から、オメガ3系脂肪酸は、インフラマソーム関連因子の発現を抑制することで、*A. actinomycetemcomitans* が誘導する炎症応答に対して抑制的に働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。

The effect of omega-3 fatty acid on inflammasome activity

○Kawano A¹, Ariyoshi W¹, Yoshioka Y¹, Yamasaki R¹, Okinaga T²

¹Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ

²Dept Bacteriol, Osaka Dent Univ

Pyroptosis is reported to be an inflammatory programmed cell death induced by intracellular pathogens. Bacterial components, pathogen-associated molecular patterns, trigger immune protective defense and are recognized by pattern-recognition receptors in macrophages. We previously reported that gram-negative bacteria invasion induced inflammasome activity and cell death in macrophages. Recently, omega-3 fatty acids, docosahexaenoic acid (DHA), have been shown to play important role in the improvement of chronic inflammatory diseases. In the present study, we clarified the effect of omega-3 fatty acids on inflammasome activity and cell death induced by *A. actinomycetemcomitans*. *A. actinomycetemcomitans* invasion induced pyroptosis attendant on IL-1 β secretion in THP-1 cells. siRNA experiments revealed that major factors of canonical inflammasome and caspase-4, which has been reported as a noncanonical pathway, are involved with pyroptosis and IL-1 β secretion induced by *A. actinomycetemcomitans* invasion. DHA pretreatment downregulated pyroptosis in *A. actinomycetemcomitans*-invaded THP-1 cells. These results indicate that omega-3 fatty acid, particularly DHA, has the inhibitory role on pyroptosis induced by *A. actinomycetemcomitans* in THP-1 cells, through the downregulation of canonical and noncanonical inflammasome pathway.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-66 母体の病原性細菌感染が仔の行動異常に与える影響について

○安松香奈江¹, 永尾 潤一¹, 有田 (森岡) 健一¹, 成田 由香¹, 長 環¹, 城戸 寛史², 田中 芳彦¹

¹福歯大 機能生物 感染生物

²福歯大 咬合修復 インプラント

胎児の脳システム発達にとって、母体の感染症は極めて重要な環境因子であり、感染によって引き起こされる母体免疫活性化 (MIA) が注目されている。近年、ウイルス感染を模倣したモデルにおいて MIA が胎児脳システム発達に影響を与えることが報告されたが、細菌感染ではよく分かっていない。そこで本研究では、病原性細菌感染による母体の環境的な変動が、仔の脳システム発達に与える影響について解明することを目的とする。妊娠した C57BL/6 マウスに *E. coli* LPS を腹腔内投与し、細菌感染を模倣したマウスモデルを構築した。そのモデルを用いて *E. coli* LPS 投与後の母体血清中のサイトカインを ELISA にて測定し、MIA における胎児を取り巻く母体免疫環境の解析を行った。また、MIA を起こした母マウスから産まれた仔マウスに対し、ultrasonic vocalizations (USV)、3 コンパートメント社会行動試験ケージ (Three Chambers) を用いた social approach test、および open field test による行動学的表現型の解析を行った。*E. coli* LPS 投与により引き起こされた MIA により、母体血中に特定のサイトカインの上昇が認められた。また、行動学的表現型の解析では、USV における母仔分離時のストレス応答反応の異常や、social approach test での社会的相互作用の障害が認められた。また、open field test では不安行動の持続を示した。以上のことから、MIA を起こした母マウスから産まれた仔マウスは、自閉症様の行動異常を示すことが明らかとなった。以上のことから、細菌感染を模倣した *E. coli* LPS の腹腔内投与による母体免疫活性化は、胎児脳システム発達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。

Effects of pathogenic bacterial infections on the abnormal behavior of offspring

○Yasumatsu K¹, Nagao J¹, Arita (Morioka) K¹, Narita Y¹, Cho T¹, Kido H², Tanaka Y¹

¹Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll

²Div Oral Implantol, Fukuoka Dent Coll

Maternal immune activation (MIA) by a microbial infection is considered to be an important factor of the fetal brain development. In recent years, it has been reported that MIA affects the fetal brain system in a mice model that mimics virus infection, but there is little evidence in bacterial infection. In this study, we aim to elucidate the influence of MIA caused by a bacterial infection on fetal brain development. As a mice model mimicking bacterial infection, pregnant dam (C57BL/6) was administered Escherichia coli lipopolysaccharide *E. coli* LPS by intraperitoneal injections. We found elevation of maternal serum cytokine by administration of *E. coli* LPS. In addition, pups born from the mother who caused MIA showed Autism Spectrum Disorder (ASD)-like behavior abnormalities. It was suggested that MIA caused by the bacterial infection affected on fetal brain system development.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-67 各培養条件下での ATDC5 細胞株の軟骨細胞分化における細胞内シグナルの解析

○沖田 楓^{1,2}, 有吉 渉², 吉岡 香絵², 山崎 亮太², 川野 亜希², 引地 尚子¹

¹九歯大 口腔保健

²九歯大 感染分子生物

ATDC5 はマウス AT805 由来の細胞株であり、軟骨細胞や色素細胞への分化能を有している。ATDC5 は培地に Insulin-Transferrin-Selenite (ITS) を加えて培養すると軟骨細胞へ分化することが知られている。軟骨細胞の初期分化から後期分化までを再現可能であることから、ATDC5 の単層培養系は軟骨形成分化の研究で幅広く用いられている。一方、Ascorbic acid (AA) はコラーゲン生成に必要とされ、ITS 中に含まれるインスリンと同様に軟骨分化を促進する。しかしながら両者は相反する細胞内シグナル機構を持つとされている。そこで、今回は種々の条件で培養した ATDC5 の軟骨分化を評価するとともに、軟骨分化誘導時の細胞内シグナルの動態について検討した。5% FBS 添加 DMEM/Ham's F-12 もしくは α MEM 中で ATDC5 に ITS および AA を加えて軟骨細胞の分化誘導を行った。軟骨分化については Alizarin red および Alcian blue 染色に加え、軟骨分化マーカー遺伝子 (Col2, Col10, Sox9, Aggrecan, HAS2, MMP13) 発現について real-time RT PCR を用いて評価した。また、細胞内シグナル分子に関しては、Akt および ERK タンパクのリン酸化を Western blot 法で評価した。各培養群の Alizarin red, Alcian blue の染色性を定量化して比較したところ、両者において α MEM + ITS + AA 群で強い染色性の亢進が観察された。軟骨分化マーカーの発現についても類似の傾向がみられた。またシグナル分子については、軟骨分化の誘導の初期段階で Akt タンパクのリン酸化は増強される一方で、ERK タンパクは誘導初期～後期まで抑制されることがわかった。また、Akt 阻害剤 (LY294002) 併用下の培養では Alcian blue の染色性は著しく低下した。今回の結果から、 α MEM + ITS + AA の培養条件で強い軟骨分化誘導能が確認された。さらにこの誘導に Akt 経路の活性化が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。

The roles of Akt and ERK signals in chondrogenic differentiation of ATDC5 cell line

○Okita K^{1,2}, Ariyoshi W², Yoshioka Y², Yamasaki R², Kawano A², Hikiji H¹

¹Sch Oral Health Sci, Kyushu Dent Univ

²Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ

ATDC5 cells differentiate into chondrocytes when cultured in medium with insulin-transferrin-selenite (ITS). Chondrogenic differentiation was carried out by adding ITS and/or AA to ATDC5 in DMEM/Ham's F-12 or α supplemented with 5% FBS. In addition to Alizarin red and Alcian blue staining, the expression of chondrogenic differentiation marker genes (Col2, Col10, Sox9, Aggrecan, HAS2, MMP13) was evaluated for chondrogenic differentiation. Phosphorylation of Akt and ERK proteins was assessed for intracellular signal molecules. Furthermore, Alizarin red and Alcian blue staining was quantified. A strong enhancement of staining was observed in the α MEM + ITS + AA group in both groups. Similar tendency was observed for the expression of condrogenic differentiation markers. As for signal molecules, phosphorylation of Akt protein was enhanced in the early stage of chondrogenic differentiation, while ERK protein is suppressed from the early to late stage. Under the culture condition of α MEM + ITS + AA with Akt inhibitor (LY 294002), the stainability of Alcian blue decreased remarkably. From these results, it is known that strong induction of chondrogenic differentiation was confirmed under the culture conditions of α MEM + ITS + AA, and the activation of the Akt pathway is involved in this induction.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-68 歯周病原細菌の増殖を抑制する口腔内細菌の同定と抗菌因子の解析

○池本梨央南¹, 中村 麻衣¹, 永尾 潤一², 有田 (森岡) 健一², 田中 芳彦²

¹福歯大 リサーチスチューデント

²福歯大 機能生物化学 感染生物

口腔内のデンタルプラークには 600 種類以上の細菌が同定されており、口腔細菌叢が形成されている。口腔細菌叢において、細菌は互いに相互作用しており、様々な共生や拮抗の関係を形成していると考えられる。しかし口腔内の清掃不良などの様々な環境要因により口腔細菌叢のバランスが崩れると病原細菌が優位になり、歯周病などの口腔疾患を発症すると考えられる。口腔内の細菌間の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、細菌叢中において競合する細菌の増殖抑制し、自己増殖のために優位な生存環境を作り出していると考えられている。我々は、健康人の口腔細菌叢には、歯周病原細菌の増殖を抑制する活性を示す常在細菌が常在し、この常在細菌の存在により健康な口腔細菌叢のバランスが維持されているのではないかと考えた。本研究では、健康人の歯垢中に存在する口腔細菌から、歯周病原細菌の増殖を抑制する口腔内細菌の同定し、さらに増殖を抑制する抗菌因子の解析することを目的とする。我々はこれまでに、健康人の歯垢から、Red complex に分類される歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* の増殖を抑制する細菌の探索を行ってきた。その中で、歯垢から単離したいくつかの細菌が *P. gingivalis* の増殖を抑制することを見出している。本発表では、*Prevotella intermedia* などの他の歯周病原細菌に対する活性の有無や増殖抑制因子に関して得られた結果を示したい。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Identification and functional analysis of oral bacteria and its antimicrobials to prevent periodontal disease

○Ikemoto R¹, Nakamura M¹, Nagao J², Arita-Morioka K², Tanaka Y²

¹Undergraduate research student program, Fukuoka Dent Coll

²Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll

The human oral cavity consists of over 600 bacterial species and it has well-balanced microbiota. However, dysbiosis of the balanced oral microbiota is associated with oral disease including 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. We have screened candidate bacteria derived from dental plaque of healthy human to inhibit the growth of the bacteria associated periodontal disease such as *Porphyromonas gingivalis*. We have found that some of bacteria inhibit the growth of *P. gingivalis*. In this study, we investigated the inhibitory activity of the bacteria against other periodontal bacteria including *Prevotella intermedia* and also analyzed its inhibitory substance.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-69 抹茶による *Porphyromonas gingivalis* に対する阻害活性のメカニズム

○高塚 絢巳^{1,2}, 池田 剛³, 平山 悟², 泉福 英信², 成澤 直規¹, 中尾 龍馬²

¹日大 院 生資科, ²感染研 細菌一, ³崇城大 薬

【目的】 抹茶は、煎茶や紅茶と同じくチャノキ(学名 *Camellia sinensis*) と呼ばれる植物を原料に加工・製造される。特に抹茶は、その全葉を微粉末にしたものが飲食されるため、抽出物を飲む煎茶・紅茶などに比べて、チャノキ由来の有用成分を多く摂取できるという利点がある。チャノキ加工品の主たる生理活性物質としてポリフェノールが挙げられ、その歯周病原性細菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) に対する抗菌および抗バイオフィーム活性が既知となっている。一方で、抹茶による抗微生物作用機序の詳細は不明である。本研究では、抹茶の Pg に対する阻害活性の詳細について生体膜生物学の観点から検討を行った。**【材料および方法】** 抹茶抽出物 (MGT-Ext) は、抹茶を水/アセトンの二成分系溶媒を用いて抽出、秤量後 DMSO にて溶解した。Pg に対する MGT-Ext の最小発育阻止濃度 (MIC) を液体培地微量希釈法により決定した。MGT-Ext で処理した細菌の膜の生物学的特性を評価するため、各種蛍光色素によるフローサイトメトリーや蛍光プレートリーダーを用いて、膜の透過性、流動性、膜電位を測定した。MGT-Ext による Pg 菌体の形態変化は、走査型電子顕微鏡と高速原子間力顕微鏡により観察した。**【結果と結論】** MGT-Ext の Pg に対する MIC は 0.5 mg/mL であった。MGT-Ext を Pg に添加すると、菌体表面にはナノ粒子様構造体が出現した。また、MGT-Ext の添加により Pg 菌体は互いに強く結合し凝集塊を形成した。MGT-Ext は Pg の膜流動性を減少させ、膜の脱分極も誘導した。一方で、MGT-Ext は Pg の膜透過性には影響を与えなかった。以上より、MGT が示した Pg の細胞膜に対する複合的な作用が、その抗菌活性等に関与することが推察された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Mechanistic insights into inhibitory activity of Matcha green tea on *Porphyromonas gingivalis*

○Takatsuka A^{1,2}, Ikeda T³, Hirayama S², Senpuku H², Narisawa N¹, Nakao R²

¹Grad Sch Bioresour Sci, Nihon Univ, ²Dept Bacteriol 1, Natl Inst Infect Dis, ³Pharm Sci, Sojo Univ

Purpose: Matcha green tea (MGT), a traditional Japanese beverage, is consumed as a fine powder from whole leaves of *Camellia sinensis* plant. One of the major phytochemicals is polyphenols, among which catechins are well known to show anti-bacterial and anti-biofilm activities against periodontopathic bacteria. However, the detailed mechanism by which MGT shows the inhibitory activities against bacteria remains unknown. We aimed to examine how MGT has an effect of periodontopathic bacteria from a membrane biological point of view. **Materials and Methods:** MGT extract (MGT-Ext) was prepared by using water-acetone binary mixture. Minimum inhibitory concentration (MIC) of MGT-Ext against *Porphyromonas gingivalis* (Pg) was determined by a broth microdilution method. Membrane potential and membrane fluidity of bacteria treated with MGT-Ext were evaluated by fluorescent dye-based assays. Morphological analysis was performed by scanning electron microscopy and high-speed atomic force microscopy. **Results and Conclusion:** MIC of MGT-Ext against Pg was 0.5 mg/mL. MGT-Ext was found to induce auto-aggregation of Pg with appearance of nano-particle structure on the cell surface. Treatment with MGT-Ext not only induced membrane depolarization, but also decreased membrane fluidity of Pg. Taken together, MGT-induced bacterial membrane disorder in function and structure is probably responsible for the inhibitory activity against Pg.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-70 歯周病の病態形成におけるプロバイオティクスの機能

○梁 尚陽¹, 永尾 潤一², 成田 由香², 有田 (森岡) 健一², 安松香奈江², 田崎 園子²,
長 環², 田中 芳彦²

¹福歯大 リサーチスチューデント

²福歯大 機能生物化学 感染生物

歯周病は歯を失う最も大きな原因となる疾患であり、口腔内に常在する歯周病原細菌が原因となる感染症である。近年、歯周病が糖尿病や誤嚥性肺炎などの全身の健康と密接に関連することが明らかになり、社会的関心が高くなっている。歯周病の病態形成には、歯周病原細菌に対する宿主の免疫応答が関連し、歯周組織の炎症と歯槽骨の吸収が起こることが明らかになってきている。その中で、IL-17A を産生する Th17 細胞が重要な役割を果たし、歯周病の病態を増悪化させることが分かってきている。しかしながら、歯周病の病態形成において、Th17 細胞の分化を誘導する免疫制御のメカニズムはよく分かっていない。歯周病原細菌に対する Th17 細胞の制御メカニズムを解明し、さらに Th17 細胞の分化を抑制することができれば、歯周病に対する新たな予防・治療法の開発に繋がると期待される。一方、近年、乳酸菌や酪酸菌などのプロバイオティクスが注目されており、これまでの様々な報告から、プロバイオティクスは、宿主の免疫賦活化など様々な機構により、種々の疾患の抑制に関与することが報告されている。我々は、これまでに歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* を用いたマウス歯周病モデルを構築し、構築したマウスモデルを用いて、*P. gingivalis* に対する免疫制御機構を解析してきた。本研究では、プロバイオティクスが *P. gingivalis* による歯周病発症に及ぼす影響を解明することを目的とする。本発表では、乳酸菌や酪酸菌などのプロバイオティクスが、*P. gingivalis* に対する宿主免疫応答および歯周病発症に及ぼす影響に着目した我々の取り組みについて報告したい。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effect of probiotics on periodontal disease

○Ryou N¹, Nagao J², Narita Y², Arita-Morioka K², Yasumatsu K², Tasaki S², Cho T²,
Tanaka Y²

¹Undergraduate research student program, Fukuoka Dent Coll

²Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll

Periodontal disease is a leading cause of tooth loss that is associated with oral periodontal bacteria including *Porphyromonas gingivalis*. Th17 cells have an important role to induce gingival inflammation and to promote alveolar bone loss in oral cavity. However, there is little knowledge regarding the regulatory mechanism to induce Th17 immune response by periodontal pathogens. There are increasing scientific evidences of a beneficial effect of probiotic bacteria such as lactic acid bacteria and butyric acid bacteria on human health. Recent findings indicated that modulation of the immune system is one of the mechanisms underlying the beneficial effects of probiotic bacteria. Therefore probiotic bacteria have a potential to prevent and treat a pathogen-induced disease. In this study, we aim to investigate the effect of probiotic bacteria on *P. gingivalis*-induced periodontal disease.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-71 ナイシン作用により分離したナイシン高度耐性 MRSA のビルレンスに及ぼす影響

○渡邊 温子¹, 松尾 美樹², 小松澤 均³

¹鹿大 院医歯 矯正, ²鹿大 院医歯 口腔微生物, ³広大 院医歯薬保 細菌

【目的】本研究の目的は、ナイシン作用により分離したナイシン高度耐性メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) がビルレンスに与える影響を検証することである。【方法】MRSA である MW2 株 105 cell にナイシンを sub-MIC 濃度 24 時間、3 回作用させることで、複数のナイシン高度耐性菌を得た。そのうち、高度ナイシン耐性株 2 株 (SAN2 および SAN469 と命名) の耐性機序は種々のビルレンスに關与する PSM α の分泌トランスポーター (Pmt) の過剰発現によることが明らかになっている。そこで、本研究では SAN2 株がビルレンスに与える影響を検証するため、1. ヒト由来抗菌性ペプチドであるヒト β デフェンシン-3 (hBD3) および LL37 に対する感受性、2. ヒツジ血液寒天培地を用いた溶血活性、3. マウスを用いた MW2 株、SAN2 株の尾静脈接種による致死活性の検証を行った。【結果】SAN2 株は MW2 株と比較し、hBD3 および LL37 に対する感受性の大幅な低下を認めた。SAN2 株の Pmt 遺伝子群の不活性化株では hBD3 および LL37 に対する感受性は増大し、MW2 株と同じ感受性を示した。また、遺伝子不活化株の相補株では SAN2 株と同じ感受性を認めた。さらに、溶血性試験において SAN2 株は MW2 株よりも高い溶血活性を示した。マウス菌血症モデルにおいて、SAN2 株は MW2 株よりも低いマウス生存率を示した。【考察】現在薬剤耐性菌の増加は世界的な問題となっており、新規抗菌薬の開発や抗菌薬の適正な使用方法が大きな課題となっている。本研究の結果から、検討した高度耐性株はナイシンの高度耐性化のみならず高ビルレンスになることが示唆された。以上のことから、今後ナイシンを臨床応用する際には、使用量や使用頻度に注意を要すると考えられる。(会員外協力者：宮脇正一)

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Analysis of virulence in nisin highly resistant MRSA

○Watanabe A¹, Kawada-Matsuo M², Komatsuzawa H³

¹Dept Orthodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

²Dept Oral Microbiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

³Dept Bacteriol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

The purpose of this study is to examine the virulence of nisin highly resistant methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). We isolated several highly nisin resistant mutants from MRSA MW2 strain by exposing sub-MIC nisin. Among them, we found that two strains designated as SAN2 and SAN469 revealed nisin resistance by overexpression of the *pmt* regions which involved in PSM α efflux. Since PSM α has been reported to be associated with the virulence, we evaluated the virulence of SAN2. In this study, we verified the susceptibility of human antimicrobial peptides (AMPs), the hemolytic activity and the lethal activity of mouse by injecting tail vein. As the result, SAN2 showed a significant decrease of the susceptibility to human AMPs compared to MW2. The *pmt* knockout strain of SAN2 showed increased susceptibility to AMPs. SAN2 showed higher hemolytic activity than MW2. In the mouse bacteremia model, SAN2 showed lower survival rate than MW2. Recently, multidrug resistant bacteria become worldwide problem. Our study revealed that the treatment of nisin against MRSA induced not only highly nisin resistance but also high virulence. Our results suggest that we have to pay more attention to use antimicrobial agents used for food additives together with clinical agents.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-72 *Treponema denticola* における表層病原性成分の発現調節機構の解明

○北村友里恵¹, 菊池有一郎², 国分 栄仁², 齋藤 淳¹, 石原 和幸²

¹東歯大 歯周

²東歯大 微生物

Treponema denticola は、慢性歯周炎の主要な病原菌であり、本菌の表層には、Dentilisin や Msp などの病原因子が存在する。我々はこれらの病原因子の発現調節についてそれぞれの欠損株を用いて、DNA マイクロアレイ解析を行った。Dentilisin 欠損株では、特定の DNA binding protein の発現上昇が認められた。そこで本研究の目的は、この DNA binding protein が *T. denticola* においてどのような機能を果たしているかについて解明することとした。*T. denticola* ATCC 35405 株 (野生株) を供試し、エリスロマイシン耐性遺伝子を用い、相同組み換えにより DNA binding protein の遺伝子欠損株 (YK-7) を作出した。細菌の増殖曲線は、TYGVS 培地を用いて培養開始から静止期までの、OD₆₆₀ を測定することによって評価した。Dentilisin 活性は発色基質 (SAAPNA) を用いて、OD₄₁₀ の吸光度により測定した。環境ストレスへの応答については、酸素曝露による生菌数の変化について、ATP 量によって解析した。DNA binding protein 遺伝子の欠損株は、増殖速度においてほとんど影響はみられなかったが、静止期の菌数に増加が認められた。Dentilisin 活性は、欠損株において約 30% の低下が認められた。酸素曝露後の生菌数を測定したところ、欠損株で有意な低下が認められた。これらの結果から、DNA binding protein は、酸素ストレスに対する応答に関わるとともに、Dentilisin の発現制御に関わっ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。

Investigation of function of the DNA binding protein in *Treponema denticola*

○Kitamura Y¹, Kikuchi Y², Kokubu E², Saito A¹, Ishihara K²

¹Dept Periodontol, Tokyo Dent Coll

²Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll

Treponema denticola is a major pathogen of chronic periodontitis, and it has several virulence factors such as Dentilisin and Msp. Gene expression analysis using microarray indicated that a DNA binding protein is increased in a Dentilisin deficient mutant. The purpose of this study is to investigate the function of the DNA binding protein in *T. denticola*. The deficient mutant of DNA binding protein was constructed by homologous recombination using *T. denticola* ATCC 35405 and the erythromycin cassette. The growth of the mutant strain (YK-7) was evaluated by measuring the OD₆₆₀. Dentilisin activity was assessed using synthetic substrates (SAAPNA) by measuring OD₄₁₀. For the response against environmental stress, viability of the mutant was assessed following the exposure to aerobic conditions by measuring quantity of ATP. The growth of the mutant strain was similar to the wild type, except for the increase of the cell number at the stationary phase. In the mutant strain, Dentilisin activity was reduced to approximately 70% of the wild type, and the viable cell count was reduced by the oxygen stress. These results suggest that the DNA binding protein is involved in the response to oxygen stress and in the expression of Dentilisin.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-73 *Streptococcus mutans* の病原因子調節遺伝子が GTF 依存的 Membrane vesicles に与える影響

○中村 知世^{1,2}, 岩淵 佑介², 成澤 直規¹, 中尾 龍馬², 泉福 英信²

¹日大 院 生資科

²感染研 細菌一

【目的】 メンブレンベシクル (Membrane vesicles; MV) は細菌が生産する 50-200 nm のナノ膜小体であり, 核酸や酵素などを含むことから物質の運び屋とされている。 *Streptococcus mutans* も MV を生産することが知られている。本研究では GTF 生産調節遺伝子である *smu833* と GTF により生産されるグルカンに結合するタンパク質 (GBP-C) の生産調節遺伝子である *smu940* が, MV の生産性及び MV 依存バイオフィーム (BF) 形成に与える影響について検討を行った。

【方法】 供試菌株は *S. mutans* UA159 株とその *smu833*, *smu940*, *gtfB*, *C* 変異株を用いた。それぞれの菌株を 1 L の Brain Heart Infusion 液体培地で培養し, その上清を 50 kDa で限外濾過後, 超遠心分離 (100,000 x g) を行い, その沈殿を 200 μ L の PBS で懸濁し MV とした。この時超遠心後の上清も実験に用いた。それぞれの MV を用いて SDS-PAGE, 抗 GTF 抗体を用いた Western-blotting を行い, GTF の確認後, *gtfB*, *C* 変異株に MV を加えた BF 形成実験を行った。

【結果】 SDS-PAGE にて GTF 量の確認を行ったところ, 野生株に比べて *smu833* 変異株では GTF が著しく減少し, *smu940* 変異株では増加していた。それぞれの MV による *gtfB*, *C* 変異株の BF 形成量を比較したところ, *smu833* では BF 形成量の低下が, *smu940* では BF 形成量の増加がみられた。また LIVE/Alexa 染色により, *smu833* の BF は他の株と比較してグルカン形成量が低下していた。

【考察】 *S. mutans* の主要な 2 つの病原因子調節遺伝子は, MV における GTF 量に影響を与え, BF に対してそれぞれ異なる働きを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。

Effects of regulatory genes to virulence factors on GTF-dependent Membrane vesicles in *Streptococcus mutans*

○Nakamura T^{1,2}, Iwabuchi Y², Narisawa N¹, Nakao R², Senpuku H²

¹Grad Sch Bioresour Sci, Nihon Univ

²Dept Bacteriol 1, Nat Inst Infect Des

Membrane vesicles (MVs) are 50 to 200 nm nanomembrane vesicles derived from bacteria, and considered to be carriers of substances because they contain proteins, nucleic acids, enzymes, etc. *Streptococcus mutans* is also known to produce MVs. In this study, we examined the effects of *smu833*, which is a GTF regulatory gene, and *smu940*, which is a regulatory gene of a glucan binding protein (GBP-C) that binds to glucan produced by GTF, on MVs productivity and MVs-dependent biofilm (BF) formation.

When the amount of GTF on the MVs was confirmed by SDS-PAGE, it significantly decreased in the *smu833* mutant compared to the wild strain, and increased in the *smu940* mutant. When the BF amounts of *gtfB*, *C* mutants induced by MVs were compared with wild type, the decrease of BF amounts was observed in *smu833* mutant and the increase of BF amounts was observed in *smu940* mutant. LIVE / Alexa staining showed that the decrease of glucan was also observed.

Two regulatory genes to major virulence factors have been found to control GTF amount levels on MVs resulting in different biofilm formation levels.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-74 *P. gingivalis* LPS 誘導性炎症性サイトカイン産生と RANKL 誘導性破骨細胞分化に対するアーティチョーク由来シナロピクリンの抑制効果

○渡辺 典久^{1,2}, 横江 将^{1,2}, 佐藤 秀一¹, 今井 健一²

¹日大 歯 保存 III, ²日大 歯 細菌

【目的】地中海, 及びアフリカ北部原産のキク科の植物であるアーティチョークは, 胃粘膜障害や皮膚の炎症に効果があること, その有効成分としてスキテルペンラクトン類のシナロピクリンの重要性が報告されている。しかし, 歯周病をはじめとする口腔疾患に対する両物質の作用, 及び詳細な作用機序に関する報告はない。そこで本研究では, 歯周病予防に効果のある新たな天然物を検索する目的で, アーティチョークとシナロピクリンが炎症性サイトカイン産生と破骨細胞分化に及ぼす作用を検討した。【材料および方法】実験にはアーティチョーク葉エキスもしくはアーティチョーク葉から精製した高純度のシナロピクリンを用いた。歯肉線維芽細胞におけるサイトカイン発現は real-time PCR 法と ELISA にて, NF- κ B の活性化は WB と Luc. assay により検討した。破骨細胞分化に対する作用は RAW 細胞分化系を用いた。【結果および考察】アーティチョーク葉エキスとシナロピクリンは濃度依存的に *P. gingivalis* LPS 誘導性の IL-8 と IL-6 産生を抑制したが, シナロピクリン単体の方が低濃度で強い効抑制果を示した。作用機序について検討した結果, シナロピクリンは NF- κ B P65 のリン酸化と I κ B α の分解を阻害することが解った。さらにシナロピクリンは, RANKL 誘導性破骨細胞分化を強く抑制した。本研究から, シナロピクリンは NF- κ B 介在性の炎症性サイトカイン産生阻害を介して, 歯槽骨吸収を抑制することが期待される。シナロピクリンは, すでに化粧品等で使用され安全性が確認されているため, 新たな歯周病予防薬の候補となりうる可能性が示唆された。(会員外共同研究者) 一丸ファルコス (株) 田中清隆, イダマルゴダアルナシリ

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Cynaropicrin suppresses LPS-induced production of inflammatory cytokines and RANKL-induced osteoclast differentiation

○Watanabe N^{1,2}, Yokoe S^{1,2}, Sato S¹, Imai K²

¹Nihon Univ Sch Dent, Dept Periodontol, ²Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent

Periodontal diseases are a major public health problem affecting over half of the adult population worldwide. LPS produced by the periodontopathic bacterium *P. gingivalis* induces the expression of inflammatory cytokines that promote inflammatory bone destruction. Mounting evidence supports that periodontal diseases are involved in the onset and progression of several systemic diseases, such as aspiration pneumonia and diabetes. In this study, we investigated the anti-inflammatory effects of an extract from *Cynara scolymus* L. and its pharmacologically effective compound cynaropicrin, a sesquiterpene lactone, on HGFs stimulated by LPS and the potential anti-osteoclastogenic effects on RAW264.7 cells induced by RANKL. We found that cynaropicrin inhibited IL-8 and IL-6 mRNA and protein synthesis in LPS-stimulated HGFs in a dose-dependent manner. *P. g.* LPS-induced degradation of I κ B α and phosphorylation of NF- κ B p65 were also suppressed by cynaropicrin, as was LPS-stimulated NF- κ B transactivation. Thus, cynaropicrin's inhibition of *P. g.* LPS-induced IL-8 and IL-6 expression may be due to the inhibition of the NF- κ B pathway. Furthermore, we showed that cynaropicrin dramatically reduced RANKL-induced osteoclast differentiation. These results suggest that cynaropicrin may be useful for preventing periodontal diseases and could prove valuable in the development of more effective preventative approaches for periodontal diseases.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-75 *Porphyromonas gingivalis* による TLR4-TRIF 経路依存性インフラマソーム活性化機構の解明

○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(I) *Porphyromonas gingivalis* (/I) (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 β や TNF- α が知られている. 特に歯周炎において IL-1 β は, 他の炎症関連因子を誘導することによって炎症反応を拡大させ, 破骨細胞の活性化に伴って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 β 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 β 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, 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. 本研究では, Toll 様受容体 4 (TLR4) および TRIF 経路の活性化誘導後に P. g. をマクロファージへ感染させると, カスパーゼ 1 の活性化に伴う IL-1 β 産生の亢進を検出した. しかし, 他の TLR 刺激やサイトカインによる細胞刺激後に P. g. を感染させたところ, IL-6 や TNF α の産生量は TLR4 刺激時に比べ変化は見られなかったが, IL-1 β 産生はほとんど観察されなかった. これらの結果から P. g. によるインフラマソーム活性化には TLR4-TRIF 経路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 mechanism of inflammasome activation induced by *Porphyromonas gingivalis* in TLR4-TRIF pathway-dependent manner

○Okano T, Suzuki T

Dept Bact Pathogen, Infect Host Resp, TMDU 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 β and TNF α are known as important pathogenesis factors of periodontitis. In periodontitis, IL-1 β expands inflammatory response by inducing other inflammatory factors. So, IL-1 β 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 β production. IL-1 β 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 β 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 Toll like receptor 4 (TLR4)-TIR-domain-containing adaptor-inducing interferon- β (TRIF) pathway is essential to activate inflammasome by P. g. .

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-76 PCR-RFLP 法を用いた口腔内細菌叢解析（プロファイリング）システム

○佐野 拓人¹, 涌井 杏奈¹, 八巻 恵子², 鷲尾 純平², 高橋 信博², 佐藤 拓一¹

¹新潟大 院保 検査技術 臨床化学

²東北大 院歯 口腔生化

【背景・目的】 ヒトの口腔内には約 1 兆個もの細菌が細菌叢を形成し、ヒトと複雑な相互関係を（産生する代謝産物等を介して）構築し、健康の維持に貢献している。ひとたび、その口腔内細菌叢のバランスが崩れると、う蝕や歯周炎などの口腔内疾患が発症し、さらには糖尿病や関節リウマチ、食道がん、大腸がん等の全身性の疾患との関係も取り沙汰されている。そのため、臨床に応用可能な口腔内細菌叢解析（例えば唾液サンプルを用いたプロファイリング）検査法の開発が期待されている。現状では、サンプル中の細菌由来 DNA を同時並列的に多量に解析できる次世代シーケンサーを用いた解析法が主流であるが、装置や解析コストが高額という難点がある。本研究は、より低コストで、かつ簡便な口腔内細菌叢解析システムの構築を目的とした。

【方法】 本研究室に保存されている口腔内細菌株を対象として、細菌の分類・同定に広く用いられる 16S ribosomal RNA 遺伝子を PCR 法で増幅した。PCR 産物は制限酵素 (*HpaII*) 処理後、アガロース電気泳動を行い、細菌種に特異的な DNA 断片を電気泳動パターン (PCR-RFLP パターン) として捉えた。このパターンを図示化し、細菌種名を対応させ、口腔内細菌種の図鑑作成を試みた。

【結果・考察】 口腔内細菌叢を構成している、主な細菌種 (*Streptococcus*, *Actinomyces*, *Veillonella* など) 計 83 菌種の PCR-RFLP パターンを、実際の電気泳動により集積し、口腔内細菌種の同定に役立つ図鑑を作成することに成功した。本手法は、口腔内細菌叢の新しい検査法と呼べるもので、次世代シーケンサー法に比べ解析コストの約 80% 削減を実現した。低コストで、大掛かりな装置も不要である本手法は、小規模な研究室や検査室などでも運用可能なものであると期待できる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Profiling system of oral biofilm microbiota using PCR-RFLP method

○Sano H¹, Wakui A¹, Yamaki K², Washio J², Takahashi N², Sato T¹

¹Div Clin Chem, Dept Med Technol, Niigata Univ Grad Sch Health Sci

²Div Oral Ecol & Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

The profiling of oral biofilm microbiota (OBM) has been traditionally performed by conventional methods, although this procedure is relatively time-consuming and labor-intensive. Currently, the metagenomic analysis of OBM using the high-speed, next generation sequencer, is one of the most promising technologies, although the high-cost of the method remains to be conquered. In this study, in order to develop the rapid and reasonable-cost method for profiling of OBM, restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified 16S ribosomal RNA genes (16S rRNA genes PCR-RFLP) was applied to oral bacterial isolates, such as *Streptococcus*, *Actinomyces* and *Veillonella*, stocked in our laboratory. 16S rRNA genes were amplified from isolated genomic DNA samples by the PCR with universal primers. The PCR products were then purified and characterized by single digestion with restriction endonuclease *HpaII*, and this allowed discrimination among the respective 83 bacterial species. Then, the 16S rRNA gene sequences were accessed from the GenBank database, and the restriction profiles expected are in accordance with the obtained RFLP patterns in this study. Therefore, 16S rRNA genes PCR-RFLP is a rapid and reasonable-cost method for profiling of OBM.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-77 骨髄炎感受性の新規遺伝的リスク要因としての HLA/KIR 多様性の解析

○矢原 寛子¹, 依田 哲也²

¹学振 特別研究員

²医科歯科大 顎顔面外

【目的】顎骨に生じる骨髄炎は、従来細菌感染が原因と考えられてきたが、近年 diffuse sclerosing osteomyelitis (以下 DSO と略す) と診断される症例の中に、自己免疫疾患や自己炎症性疾患を含む全身状態に関連するものがあることが示唆されてきた。しかしながら、遺伝的免疫学的背景は未だ明らかになっていない。そこで我々は、HLA と KIR (各種免疫細胞表面に発現し HLA と結合する)、およびその組み合わせに注目し研究を行った。【方法】DSO 患者 18 名と健常者 18 名の血液から DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いて HLA35 遺伝子のタイピングと KIR 領域のハプロタイプの決定を行い、DSO と関連する遺伝的個体差を探索した。【結果と考察】健常者に比べ患者集団で有意に高頻度に存在し、疾患感受性と考えられる HLA-A のアミノ酸置換、および KIR 領域のハプロタイプと HLA-C のアミノ酸置換の組み合わせが明らかになった。前者は HLA-A の抗原ペプチドとの結合ポケットに存在し、抗原提示への影響が示唆された。後者は HLA-C の α 鎖と β_2 ミクログロブリンの結合境界の近くに位置し、HLA-C の不安定化に関係している可能性が示唆された。なお本研究は、HLA のアミノ酸置換と KIR 領域のハプロタイプに注目し、希少疾患を対象に行われた初めてのケース・コントロール研究である。非会員共同研究者: 堀田彰一郎(福島県立医科大学), 柳本惣市(長崎大学), 北川善政(北海道大学), 浅香卓哉(北海道大学), 森田圭一(東京医科歯科大学), 道泰之(東京医科歯科大学), 武知正晃(広島大学), 島末洋(広島大学), 丸岡豊(国立国際医療研究センター), 近藤英司(信州大学), 楠川仁悟(久留米大学), 田嶋敦(金沢大学), 細道一善(金沢大学), 矢原耕史(国立感染症研究所)

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Identification of HLA polymorphisms and their combination with KIR haplotype associated with diffuse sclerosing osteomyelitis

○Yahara H¹, Yoda T²

¹JSPS SPD

²Dept Oral Maxillofac Surg, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent

The diffuse sclerosing osteomyelitis (DSO) of the jaw, a rare type of chronic osteomyelitis, is associated with systemic conditions including autoimmune deficiencies. However, little is known about how the genetic and immunological background of patients influences the disease. Here, we focus on HLA, KIR, and their specific combinations that have been difficult to analyse owing to the high diversity of both genes. Utilizing cutting-edge technology, we investigated alleles of the 35 HLA loci and KIR haplotypes composed of centromeric and telomeric motifs in 18 patients and 18 healthy control subjects. We identified amino acid substitutions of ten residues in HLA-A and the threonine at position 94 of HLA-C in combination with the telomeric KIR genotype of haplotype tA01/tB01 that had significantly higher frequency (> 20%) in the case population. Structure-based analysis revealed that amino acid changes in HLA-A are in the region of the binding pocket and could affect antigen presentation, while the combination of the amino acid change in HLA-C and the telomeric genotype tA01/tB01 could weaken the interaction, possibly lowering sensitivity towards presented antigens. Our findings demonstrate that focusing on HLA, KIR, and their interaction is a useful approach for genetic association studies of rare diseases.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-78 加齢およびエストロゲンシグナル欠乏は唾液腺における老化関連 T 細胞集積を促進する

○黒澤 実愛, 古川 匡恵, 松下 健二, 四釜 洋介

長寿研 口腔疾患

【目的】口腔乾燥症は加齢とともに患者数が増加し、特に中高年の女性に多い。本研究は、老齢マウスを用い、免疫老化や唾液腺実質細胞の細胞老化、および性ホルモンの「ゆらぎ」が唾液腺機能におよぼす影響を解析する事を目的とした。

【方法】C57BL/6N の老齢マウス(約 22ヶ月齢)と初老マウス(12ヶ月齢)、若齢マウス(約 7 週齢)を用いて解析した。免疫細胞は FACS で解析し、唾液腺に関しては DNA microarray および Real-time PCR で解析した。唾液腺上皮細胞の単離には上皮細胞のマーカーである CD326 の抗体を結合した磁気ビーズにて単離した。

【結果】若齢マウスと比較して老齢マウスの唾液量が減少した。加齢とともに二次リンパ組織では老化関連 T (SA-T)細胞が増加するとともに、老齢マウスの唾液腺において SA-T 細胞が集積し、特に老齢メスマウスで顕著であった。DNA microarray の結果から、老齢マウス由来唾液腺上皮細胞ではケモカインである CXCL13 発現が上昇しており、特にメスマウスでその上昇が顕著であった。性ホルモンの影響を検討するために唾液腺上皮初代培養細胞をエストロゲン受容体拮抗薬で刺激すると、CXCL13 発現が誘導された。この結果から、唾液腺上皮細胞の老化およびエストロゲンシグナルの欠乏によって CXCL13 発現が誘導される可能性が示唆された。

【結論】メスマウスでは、加齢によりエストロゲンレベルが低下することから、エストロゲンシグナルの低下または欠乏、および唾液腺上皮細胞の細胞老化により CXCL13 発現が上昇し、その結果唾液腺に SA-T 細胞が集積することで、組織破壊が誘導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。

Involvement of aging and estrogen signaling in the accumulation of senescence-associated T-lymphocytes in the salivary glands

○Kurosawa M, Furukawa M, Matsushita K, Shikama Y

Dept Oral Dis Res, NCGG

Objectives: The mechanisms underlying the involvement of aging and/or gender in the function of the salivary glands (SG) are not well known. The age-dependent development of senescence-associated T-lymphocytes (SA-Ts) has been reported in secondary lymphoid tissue. In this study, we investigated whether SA-Ts accumulate in the (SG) with aging and the mechanism underlying their accumulation.

Methods: Young or aged C57BL/6N mice were used. The mRNA expression levels were analyzed by real-time PCR and DNA microarray. The cell population and number in tissues were examined by flow cytometry. Epithelial cells in the SG were magnetically isolated by CD326 microbeads.

Results & Conclusion: Although the population and number of SA-Ts and B-lymphocytes were greater in the SG of both male and female aged mice than in the corresponding young mice, the population and number were significantly greater in aged female mice than in aged male mice. B-lymphocytes play an essential role in accumulating SA-Ts. The mRNA expression level of CXCL13 was found to be higher in the SG epithelial cells of aged female mice than in those of aged male mice. Estrogen deficiency may increase CXCL13 expression in SG epithelial cells and SA-Ts accumulation, resulting in tissue destruction in the SG.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-79 EBV 関連悪性リンパ腫モデルマウスの作製とヒトリンパ腫との組織レベルでの比較検討

○小池 亮¹, 今井 健一²

¹日大 歯 口腔外科

²日大 歯 細菌

Epstein-Barr Virus (EBV) は成人のほとんどのに感染しているが、まれに悪性リンパ腫や上咽頭癌などを引き起こす。EBV は霊長類のみにしか感染しないため、動物実験が困難である。この点を克服するため、超免疫不全マウス (NOG マウス) をヒト化しヒトの免疫細胞を持つヒト化マウスが実験に用いられている。EBV 陽性のリンパ腫は予後不良であるにも関わらず、in vivo における解析が遅れているため、発症機序含め不明な点が多い。有効薬がないことから研究の発展が急務である。そこで今回、本研究室で作製した陽性悪性リンパ腫モデルマウスとヒト悪性リンパ腫との類似性を主に免疫染色及び分子生物学的手法を用いて解析し、モデルマウスとしての有用性を検討した。EBV 感染マウスは、NOG マウスに CD34 陽性ヒト臍帯血を静脈内注射しヒト化させ、EBV を投与し作製。ヒト組織は東海大学病院にて EBV 関連リンパ腫と診断された患者の生検組織を用い、サイトカインや細胞表面マーカーの免疫染色し、クロナリティ解析は切片より DNA を回収し H 鎖の PCR, 及び kappa と lambda 鎖の免疫染色を行い検討した。免疫染色及びクロナリティ解析の結果、本モデルマウスと実際のヒトの EBV 関連リンパ腫は、腫瘍細胞のみならず腫瘍微小環境も非常に類似していた。また、ヒトと同様のサイトカイン及び CD163 陽性のマクロファージがリンパ腫の発症と進行に関与していることが示唆された。従って、本モデルマウスは EBV が関連する発癌メカニズムの解明のみならず、新規治療薬の開発のために有用であると考えられた。

会員外共同研究者: 日本大学歯学部口腔外科学講座 金子忠良, 外木守雄, 東海大学医学部血液腫瘍内科講座 幸谷研究室 幸谷愛, 東海大学医学部病理学講座 Joaquim Carreras, 中村直哉

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

The humanized EBV-LPD recapitulate Human non GCB DLBCL

○Koike K¹, Imai I²

¹Dept Oral Maxillofac Surg, Nihon Univ

²Dept Microbiol, Nihon Univ

We have been engaged in researches on EBV-related lymphomas. Since EBV infects only primates, we use a system to humanize of immunodeficient mice established by Imadome et al. causing an EBV lymphoproliferative disease by introducing EBV (NOG-EBV-LPD). The feature of this system is that not only tumor cells but also tumor microenvironment are composed of human cells. Therefore, we stained tumor tissues of NOG-EBV-LPD mice and human EBV-positive DLBCL with cytokines (IFN-beta, TNF-alpha, IL-10) and cell surface markers (CD68, CD163, CD79a) to analyze the similarities and differences of immune responses in EBV-related lymphomas. As a result, similar results were obtained for cytokines and CD79a. On the other hand, CD68 and CD 163 were slightly weaker in humanized mice compared with humans. From the above, it is presumed that NOG-EBV-LPD mice are more similar to human EBV related diseases than expected, and even in NOG-EBV-LPD mice, cytokines and macrophages similar to human EBV related diseases are also involved in the onset and progression, suggesting that analysis of carcinogenesis mechanism and a novel therapeutic agent for EBV-related diseases using NOG-EBV-LPD mice may be useful.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-80 アルテピリン C 長期添加によるヒト歯根膜線維芽細胞でのゲノムワイド解析

○高井 理衣¹, 植原 治², 吉田 光希³, 佐藤 惇³, 安彦 善裕³, 太田 亨¹

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

【目的】プロポリスは抗菌、抗酸化作用等の多くの薬理学的特性を有するため歯磨剤に用いられ、歯周病の予防が期待されている。プロポリスの歯周病原菌に対する抗菌作用については報告されているが、宿主である歯周組織に対する生理活性作用については未だ明らかとなっていない。本研究では、プロポリスの歯周組織への効果を明らかにするため、プロポリスの主成分であるアルテピリン C をヒト歯根膜線維芽細胞へ作用させ、遺伝子発現変化についてゲノムワイドに解析を行った。【方法】アルテピリン C 25 μ M/ml (WAKO) を 3 日毎に培養液に添加しながらヒト歯根膜線維芽細胞 (LONZA) を 1 ヶ月間培養した。対照群には DMSO を添加した。total RNA を抽出し、Microarray (Agilent technology) にて遺伝子発現を解析後、発現変化の認められた遺伝子を DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>) の KEYWORDS 解析を用いて機能分類を行った。有意な発現変化がある遺伝子群について qPCR 法にて発現変化の再現性の確認を行い、結果を Mann-Whitney U 検定にて比較・検討した ($p < 0.05$)。【結果と考察】マイクロアレイ解析では、Z score > 2.0 かつ 1.5 倍以上の発現上昇がみられたのは 370 遺伝子、Z score > 2.0 かつ 0.66 倍以下の発現低下がみられたものは 378 遺伝子であった。これらの遺伝子をキーワード解析にて機能分類してみると 41 群に分けられた。最も有意な発現変化が認められたのは細胞外マトリックスの遺伝子群で、発現が最も上昇していた遺伝子には TNXB, WNT7B, COL9A2, 発現が最も低下した遺伝子には HSPG2, LAMB4 が含まれていた。これらの遺伝子は、qPCR 法においても再現性が確認された。アルテピリン C 長期添加により、ヒト歯根膜線維芽細胞において細胞外マトリックスに関連する遺伝子発現の顕著な変化がみられたことから、プロポリスは歯周組織の細胞外マトリックスに対して著明な生理活性作用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。

Genome-wide analysis of gene expression profiling in HPDLFs treated by Artepillin C

○Takai R¹, Uehara O², Yoshida K³, Sato J³, Abiko Y³, Ohta T¹

¹Res Inst Health Sci, Health Sci Univ Hokkaido

²Div Dis Control Mol Epidemiol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent

³Div Oral Med Pathol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent

Purpose: Although propolis is often used for prevention of periodontal disease, it is still unknown how propolis affects periodontal tissue. In this study, we performed genome-wide analysis of gene expression profiling in human periodontal ligament fibroblast cells (HPDLFs) by the stimulation with Artepillin C, a main component of propolis. Materials & Methods: The culture of HPDLFs was repeated, alternating 3 days with Artepillin C (25 μ M/ml, WAKO) and 3 days without Artepillin C for 1 month. Samples with DMSO were used as controls. Total RNA was extracted from the cells and we performed DNA microarray analysis (Agilent technology). The genes of changed expression in the microarray were classified according to for the function by Keyword analysis in DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>). The reliability of the gene expressions was confirmed by quantitative RT-PCR. Results & Conclusion: Overall, upregulated gene expressions were 370 genes, and downregulated gene expressions were 378 genes by Artepillin C in the microarray. We identified 41 groups categorized based on the gene function in DAVID. The group of extracellular matrix genes was the most relevant to Artepillin C stimulation in HPDLFs. The results indicate that propolis may strongly affect extracellular matrices in the periodontal ligament.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-81 高転移臓器における転移促進的微小環境の性質の検討

○河合 穂高¹, 信長ひかり¹, May Wathone Oo¹, 吉田 沙織¹, 大森 悠加¹, 高畠 清文¹,
中野 敬介¹, 辻極 秀次², 長塚 仁¹

¹岡大 院医歯薬 口腔病理, ²岡山理大 理 臨生科 組織病態

【目的】腫瘍は転移に際し遠隔臓器に転移促進的な微小環境を形成し、同環境を足場にして転移が成立すると考えられている。骨髄由来細胞(Bone marrow derived cell: BMDC)は、微小環境形成に重要な役割を果たしており、肺では MDSC (myeloid derived suppressor cells) の関与が報告されている。しかし、転移促進的微小環境の研究は多くが肺に着目した研究であり、その他の臓器における微小環境の性格は不明な点が多い。本研究では、マウスの異なる高転移臓器における転移促進的微小環境の違いについて検討を行った。【方法】放射線照射を行なった野生型マウス(C57BJ/6)に、GFP マウス(C57BL/6-Tg(CAG-EGFP))より得た骨髄細胞を移植し、GFP 陽性骨髄移植マウスを作製した。同マウスにマウス由来肺癌細胞(LLC(Lewice lung cancer))を移植した。移植1・4週後に各臓器を摘出し、転移の有無を確認した。得られた組織から標本を作製、免疫組織化学染色・蛍光免疫二重染色を用いてGFP陽性細胞の局在を検討した。コントロール群として、骨髄移植のみ行ったGFP陽性骨髄移植マウスを用いた。【結果】尾静脈より腫瘍を移植した転移モデルマウスでは、肺と肝臓で腫瘍の転移が観察されたが、その他の臓器で転移はみられなかった。この結果から、肺と肝臓を高転移臓器、腎臓を低転移臓器として検討を行った。腫瘍を移植し転移巣が形成される前に屠殺した移植モデルマウスでは、低転移臓器に比べ高転移臓器でGFP陽性細胞の優位な増加がみられ、肺で増加した細胞はCD11b, Gr-1陽性であった。【考察】高転移臓器では低転移臓器に比べ、優位にBMDCが増加していた。また、肺で増加していたCD11b+/Gr-1+ BMDCは、MDSCと考えられた。高転移臓器である肝臓でもBMDCが増加し転移への関与が考えられたが、MDSCはほとんど観察されなかった。高転移臓器においても、臓器ごとに転移が成立する過程やそれをサポートする細胞は異なると考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Investigation of the chracter of metastasis promoting microenvironment in each high-metastatic organs

○Kawai H¹, Nobunaga H¹, May Wathone O¹, Yoshida S¹, Omori H¹, Takabatake K¹,
Nakano K¹, Tsujigiwa H², Nagatsuka H¹

¹Dept Oral Patho and Med, Okayama Univ Grad Sch Med, Dent and Pharma

²Dept Life Sci, Fac Sci, Okayama Univ of Sci

[Purpose] Malignant tumor forms a microenvironment promoting metastasis to distant organs, and metastasis is completed by the environment as a scaffold. Bone marrow derived cells (BMDCs) play an important role in forming a microenvironment. However, many studies focused on the lungs, and the nature of the microenvironments in other organs is often unknown. In this study, we examined differences in metastasis-promoting microenvironments in different highly metastatic organs of mice. [Methods] Bone marrow cells obtained from GFP mice (C57BL/6-Tg (CAG-EGFP)) were transplanted into irradiated wild-type mice (C57BJ/6) to produce GFP-positive bone marrow-transplanted mice. The same mice were transplanted with mouse-derived lung cancer cells (LLC (Lewice lung cancer)). Samples were investigated immunohistochemical methods. [Results] Metastasis was observed in the lung and liver in the metastasis model mice, but metastasis was not observed in other organs. There was a significant increase in GFP-positive cells in highly metastatic organs compared to poorly metastasized organs, and in the lungs, CD11b, Gr-1 positive cells were increased. [Consideration] BMDC was predominantly increased in highly metastasized organs compared to poorly metastasized organs. Even in highly metastasized organs, the process of metastasis establishment and the cells supporting them were considered to be different for each organ. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

P1-82 雄性 NOD マウスにおける涙腺炎発症と涙液分泌低下の関連性

○大野 雄太, 佐藤慶太郎, 柏保 正典

朝日大 歯 薬理

【背景】シェーグレン症候群 (Sjogren's syndrome, 以下 SjS) は、涙腺や唾液腺といった外分泌腺における慢性炎症により生じる外分泌機能の低下から、ドライアイやドライマウスなどの症状を呈する。これらの病態生理に関与する外分泌機構には不明な部分が多く、原因療法の開発は実現に至っていない。Non-obese diabetes (NOD) マウスは涙腺および唾液腺において炎症性細胞の浸潤がみられるため、SjS モデルとして応用されている。本研究では、雄性 NOD マウスの涙腺を用いて、涙液分泌低下機序について検討した。

【方法】実験には雄性 NOD マウス、およびその対照として BALB/c マウスを用いた。発症時期について検討するため、4, 6, 10 週齢において、三種混合麻酔 (メドトミジン 0.75 mg/kg, ミダゾラム 4 mg/kg, ブトルファノール 5 mg/kg, i. p.) 下でピロカルピン (0.5 mg/kg, i. p.) の投与前、および投与後 2 分毎に涙液分泌量を 30 秒間計測した。また、涙腺および各大唾液腺を摘出し、重量測定およびヘマトキシリン・エオジン染色 (HE 染色) を行った。10 週齢の涙腺において、水分分泌に関与する aquaporin 5 (AQP5) の発現をウエスタンブロット法により検討した。

【結果】対照に比して雄性 NOD マウスにおいて、涙液分泌の低下が 6 週齢と 10 週齢でみられた。対照に比して雄性 NOD マウスの体重補正涙腺重量は週齢を追うごとに増大し、10 週齢においては約 1.3 倍であった。大唾液腺の重量は舌下腺を除き NOD マウスと対照マウスで有意差は認められなかった。HE 染色から、6 週齢で炎症性細胞の浸潤が観察され、10 週齢においては顕著にみられた。涙腺炎発症後の AQP5 の発現は、対照マウスに比して NOD マウスの涙腺においてタンパクレベルで低下していた。

【考察】雄性 NOD マウスにおいて、涙腺炎発症と涙液分泌低下が同時に起こり、涙液分泌低下は AQP5 の減少に関与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。

Relationship between dacryoadenitis and lacrimal hyposalivation in male NOD mice

○Ohno Y, Satoh K, Kashimata M

Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent

Sjogren's syndrome (SjS) is a disease that presents dry eye and mouth with chronic inflammation of exocrine glands, such as lacrimal gland (LG) and salivary gland. The causal treatment of SjS has not been established since the mechanism of exocrine secretion remains unclear. Non-obese diabetes (NOD) mice, which present a leukocytic infiltrate of exocrine glands, are used as SjS model. Here, we investigated the mechanism of lacrimal hyposalivation in male NOD mice. Male mice were used at ages 4, 6, and 10 weeks. In NOD mice, tear flow rate after pilocarpine treatment was decreased at ages 6 and 10 weeks, compared with age-matched control (BALB/c) mice. In addition, LG weight/body weight in NOD mice was increased as compared with that in control mice. On hematoxylin-eosin-stained LG sections in NOD mice, the inflammatory cells were observed from 6 weeks old, and the infiltration area was increased at 10 weeks old. By western blotting analysis, the expression level of aquaporin 5 (AQP5) was decreased in LG in NOD mice at 10 weeks old. These results suggested that the onset of dacryoadenitis and lacrimal hyposalivation occur simultaneously, and a decrease in AQP5 in LG is involved in lacrimal hyposalivation in male NOD mice.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-83 脂質異常症モデルマウスは切歯象牙質の肥厚と骨量減少を呈する

○黒滝優太郎^{1,2,4}, 坂井 信裕^{2,4}, 佐藤ゆり絵^{2,3,4}, 唐川亜希子^{2,4}, 茶谷 昌弘^{2,4},
古賀 貴子^{2,4}, 高見 正道^{2,4}

¹昭大 歯 地域連携歯科, ²昭大 歯 歯科薬理

³昭大 歯 障害者歯, ⁴昭大 薬理科学研究セ

【目的】脂質異常症は、血中の低比重リポ蛋白質(low-density-lipoprotein: LDL)の増加を特徴とする生活習慣病であるが、脂質代謝異常が骨や歯に及ぼす影響を及ぼすか詳細は不明である。昨年、本学会において高脂肪食を摂餌させた野性型および LDL 受容体 (LDLR) を欠損した (*ldlr*^{-/-}) マウス切歯の歯髄が狭窄したことを報告した。今回は同種マウスにおける切歯成長速度とエナメル質形成に関する解析を行った。【方法】8 週齢野性型マウスを標準食群及び高脂肪食群に分け、それぞれ標準食(脂肪分 14%)と高脂肪食(脂肪分 36%)を与えた。10 週目に下顎切歯唇側歯頸部に歯科用エンジンにて切削痕をつけ、2 週後、切削痕の移動距離を計測し歯の伸長速度を求めた。歯の形態及び組織像は μ CT 及び組織切片にて解析した。また血中の脂質マーカーが高値を示す LDL 受容体欠損 (*ldlr*^{-/-}) マウスを用いて同様に実験した。【結果】高脂肪食群では、標準食群に比較して 1 日あたりの歯の伸長速度は有意に低下を認めた。高脂肪食群の歯の μ CT 像から切歯は象牙質の肥厚に伴う歯髄狭窄を示し、組織切片では象牙芽細胞の密度の増加と狭窄部の象牙前質が消失していることが観察された。*ldlr*^{-/-}マウスの標準食群では、歯の伸長速度は野生型と有意差はなかったが、歯髄は狭窄傾向が認められた。一方、脂質マーカーが顕著に高値を示した *ldlr*^{-/-}マウスの高脂肪食群では、歯の伸長速度の低下傾向と歯髄狭窄が認められた。【考察】脂質代謝の異常は歯の萌出速度と象牙芽細胞の変化を起こすことが確認された。原因として血中リポタンパク質の増加と LDL 受容体の直接的または間接的な関与が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Dyslipidemia model mice exhibit incisor dentin thickening and decreased bone mass

○Kurotaki Y^{1,2,4}, Sakai N^{2,4}, Sato Y^{2,3,4}, Karakawa A^{2,4}, Chatani M^{2,4}, Koga T^{2,4}, Takami M^{2,4}

¹Dept SND, Div Community-Based Comprehensive, Sch Dent, Showa Univ

²Dept Pharm, Sch Dent, Showa Univ

³Dept Spec Needs Dent, Div Dent for Persons with Disabilities, Sch Dent, Showa Univ

⁴Pharm Res Cent, Showa Univ

[Aim] In a society presentation in 2018, we reported that wild-type mice fed a high-fat diet as well as mice with dyslipidemia lacking the LDL receptor (*ldlr*^{-/-} mice) showed narrowed dental pulp in the incisors. In this study, we analyzed the rate of incisor growth and enamel formation using *ldlr*^{-/-} mice strain mice. [Methods] Eight-week-old *ldlr*^{-/-} mice were divided into standard and high-fat diet groups. At 10 weeks of age, a cut mark was placed on the lower incisor with a dental engine, then its movement was measured with μ CT to determine tooth extension speed. [Results] In the high-fat diet group, the rate of daily tooth extension was significantly reduced as compared to the standard diet group. μ CT imaging of high-fat diet mouse teeth showed dental pulp stenosis accompanied by dentin thickening in the incisors, as well as increased odontoblast density and reduced pre-dentin quality in tissue sections. On the other hand, a tendency for increased tooth extension speed and dental pulp stenosis were observed in the high-fat diet group. [Discussion] These findings suggest that an abnormal lipid metabolism has effects on tooth growth rate and odontoblast differentiation.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-84 レミフェンタニル投与下における口腔組織血流量と口腔組織酸素分圧の変化－セボフルランとデスフルランの比較－

○小林 彩香¹, 笠原 正貴², 一戸 達也³

¹東歯大 院歯 麻酔, ²東歯大 薬理, ³東歯大 麻酔

【目的】セボフルラン (Sevo) 麻酔下にレミフェンタニル (Remi) を投与すると, 口腔組織血流量は減少するが口腔組織酸素分圧は低下しない. 一方, デスフルラン (Des) 麻酔下に Remi を投与した時の口腔組織血流量および口腔組織酸素分圧の変化は不明である. 以上より本研究の目的は, Des 麻酔下に Remi を投与した時の口腔組織血流量と口腔組織酸素分圧の変化を, Sevo 麻酔下での変化と比較検討することとした. 【方法】日本白色種系雄性家兎 (2.5 kg, n=16) を使用した. イソフルランで麻酔導入後, 静脈確保, 気管切開, 大腿動脈へのカテーテル留置を行った. 各個体は Sevo と Des の両麻酔薬で観察を行い, 吸入順序はランダムとした. 各揮発性麻酔薬の吸入濃度は 1.0MAC とし, Remi は 0.4 μ g/kg/min で投与した. 観察項目は収縮期血圧, 拡張期血圧, 平均動脈圧, 心拍数 (HR), 総頸動脈血流量 (CCBF), 下顎骨骨髓組織血流量 (BBF), 咬筋組織血流量 (MBF), 下顎骨骨髓組織酸素分圧 (PbO₂), 咬筋組織酸素分圧 (PmO₂) とした. 測定は麻酔薬吸入開始 60 分後の Remi 投与前, Remi 投与開始 20 分後, Remi 投与中止 60 分後に行った. 【結果】Sevo と比較し, Des の方が HR, 血圧, CCBF は高く維持された. 一方, MBF は Sevo よりも低く維持された. BBF, PmO₂, PbO₂ は両麻酔薬とも同程度であった. Remi 投与下では両麻酔薬とも BBF, MBF が減少したが, PbO₂ は上昇した. PmO₂ は変化しなかった. Remi 投与中止 60 分後, BBF, MBF, PbO₂, PmO₂ は投与前に戻った. 【結論】Sevo よりも Des の方が循環動態を良好に維持したまま口腔組織血流量を減少させた. Remi 投与下では, 両麻酔薬ともに口腔組織血流量を減少させるものの, 口腔組織酸素分圧は維持された.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

Changes in oral tissue blood flow and oral tissue oxygen tension during remifentanyl infusion under sevoflurane or desflurane anesthesia

○Kobayashi A¹, Kasahara M², Ichinohe T³

¹Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll Grad Sch Dent

²Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll

³Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll

Purpose: The aim of this study was to compare changes in oral tissue blood flow and oral tissue oxygen tension when remifentanyl (Remi) was infused under sevoflurane (Sevo) or desflurane (Des) anesthesia. **Materials & Methods:** Sixteen male tracheotomized Japan White rabbits were anesthetized with Sevo or Des under mechanical ventilation. The order of the inhalation of Sevo or Des was randomized. Sevo or Des was administered at 1.0 MAC and Remi was infused at 0.4 μ g/kg/min. Observed variables included circulatory variables, common carotid artery blood flow (CCBF), mandibular bone marrow blood flow (BBF), masseter muscle blood flow (MBF), mandibular bone marrow tissue oxygen tension (PbO₂), and masseter muscle tissue oxygen tension (PmO₂). **Results:** Although Des showed less suppression of circulatory variables and CCBF than Sevo, BBF, PmO₂ and PbO₂ were similar while. Under Remi infusion, both anesthetics similarity reduced BBF and MBF, while increased PbO₂. **Discussion:** Des reduced oral tissue blood flow while maintained better circulatory dynamics than Sevo. Under Remi infusion, although both anesthetics reduced oral tissue blood flow, oral tissue oxygen tension was maintained.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-85 プロポフォールによる意識消失時の大脳皮質における神経活動の変化

○梶原 美絵^{1,2}, 小林 真之²

¹日大 歯 麻酔

²日大 歯 薬理

現在歯科医療において、静脈内鎮静下および全身麻酔下での治療にプロポフォールが頻繁に使用されている。プロポフォールは、GABA_A受容体を介した抑制性シナプス伝達を増強し、大脳皮質の興奮と抑制のバランスを変調させることで意識消失をもたらすと考えられている。意識消失時、脳波は高振幅低頻度の徐波を形成し、 α 周波数帯に収束することが知られている。しかし、プロポフォール投与時の大脳皮質局所神経回路における徐波を形成する興奮性および抑制性ニューロンの同期性については不明な点が多い。そこで本研究では、プロポフォールによる興奮性および抑制性ニューロンの発火頻度と同期性への影響を明らかにするため、マルチ・チャンネル・ユニット記録用電極を用いて、覚醒下およびプロポフォールによる全身麻酔下のラット島皮質における興奮性および抑制性ニューロンの活動を解析した。記録ニューロンは、活動電位の発火特性により、高頻度かつバースト発火型・抑制性 (HFB) ニューロンと興奮性 (non-HFB) ニューロンの2種類に分類した。プロポフォール (12 mg/kg i. v.) の投与により、HFB ニューロンは発火頻度が減少した。non-HFB ニューロンは一過性の発火頻度の上昇を示した後に、減少した。また cross-correlogram より、プロポフォールが HFB および non-HFB ニューロン間の発火の同期性を高めることが明らかとなった。HFB ニューロンおよび non-HFB ニューロンの発火間隔を分析すると、 α 波と近似した 8-15 Hz の周波数帯が上昇した。これらの結果より、プロポフォールによるニューロンの顕著な発火頻度の減少や同期性の増大が大脳皮質ニューロンの律動発火を惹き起こし、その結果、意識消失時に認められる α 周波数帯への収束に寄与すると考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Propofol decreases spike firing frequency with an increase in spike synchronization in the cerebral cortex

○Kajiwara M^{1,2}, Kobayashi M²

¹Nihon Univ Sch Dent Dept Anesthesiol

²Nihon Univ Sch Dent Dept Pharmacol

Propofol, one of the representative intravenous anesthetics, is widely used for dental treatments under sedation and general anesthesia, and known to modulate the excitatory-inhibitory balance in the cerebral cortex by potentiating GABA_A receptors. Additionally, it has been reported that propofol induces alpha frequency band in the electroencephalogram. However, it is not well understood how changes in excitatory-inhibitory balance produce unconsciousness by propofol. To elucidate this issue, we performed extracellular unit recordings from rat insular cortical neurons under awake and propofol-induced anesthetized conditions. We classified recorded neurons into two categories, with high spontaneous firing frequency and bursting (HFB) neurons, presumably fast-spiking GABAergic neurons, and non-HFB neurons. Shot injection of propofol (12 mg/kg i. v.) reduced the firing frequency of HFB neurons, whereas non-HFB neurons showed an initial increase of firing frequency before a decrease of that by propofol injection. Cross-correlograms demonstrated an enhancement of synchronization between HFB and non-HFB neurons. The analysis of interspike interval showed an increase in spike firing at 8-15 Hz. These results suggest that propofol suppresses the firing frequency of both types of neurons, and enhances synchronized neural activities in alpha frequency band in the cerebral cortex.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-86 テロメア構造結合性新規化合物の抗癌効果の検討

○福田 晃¹, 東 泉², 大住 伴子², 竹内 弘²

¹九歯大 顎顔面外科

²九歯大 口腔応用薬理

【目的】 テロメラーゼはテロメア反復配列 (TTAGGG) を染色体末端に伸長させる酵素であり, 多くの癌組織の 80% 以上で過剰発現を認めるため, 抗癌剤の新たな標的として期待される. 本研究では, テロメア反復配列が細胞内で特徴的な 4 本鎖構造を形成することに着目し, 同構造に結合する環状ナフタレンジイミド (cyclic naphthalene diimide; cNDI) および環状アントラキノン (cyclic anthraquinone; cAQ) のテロメア DNA 構造への特異性を向上させた誘導体について, 複数の口腔癌由来細胞株および正常細胞に対する増殖抑制効果を比較検討した. **【材料および方法】** cNDI 誘導体及び cAQ 誘導体は, 九州工業大学の竹中らから供与を受けた. ヒト口腔癌由来細胞株 Ca9-22, SAS, HSC-2, KB および不死化ヒト細胞株 HaCaT, HEK293 およびヒト正常上皮角化細胞ならびにマウス大腿骨より調製した骨髄細胞を用い, WST-8 による細胞増殖活性と RT-PCR による遺伝子発現を検討した. **【結果】** 検討した全ての化合物は用量依存的に細胞増殖を抑制した. 中でも cAQ-mBen の ID50 値による細胞増殖抑制効果は, 各細胞株における TERT 遺伝子の mRNA 発現レベルと高い関連性を示した. さらに cAQ-mBen による細胞増殖抑制効果は, CDDP との比較において, ヒト正常角化細胞やマウス骨髄細胞と比べて癌由来細胞株に対し, 強い細胞増殖抑制効果を示した. **【結論】** cNDI および cAQ 誘導体は, 癌特異性を向上させた新規抗癌剤として有望であると考えられた. 会員外共同研究者: 佐藤しのぶ, 竹中繁織 (九州工業大学工学研究院物質工学研究系応用化学部門・バイオマイクロセンシング技術研究センター)

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Anti-cancer activity of novel ligands for the telomere structure

○Fukuda H¹, Higashi S², Ohsumi T², Takeuchi H²

¹Kyushu Dent Univ Div Oral Maxillofac Surg

²Kyushu Dent Univ Div Appl Pharmacol

Objectives: Telomerase extends telomeric repeat sequence to the end of chromosome and is overexpressed in more than 80% of various cancer tissues. Thus, ligands for the unique tetraplex structure formed by telomeric repeat sequence have been expected as candidates for anti-cancer drugs. In this study, we examined the effects of the derivatives of Cyclic naphthalene diimide (cNDI) and cyclic anthraquinone (cAQ) with different linker chains to improve specific binding for the unique structure. **Materials & Methods:** cNDI and cAQ derivatives were synthesized by Prof. Takenaka (Kyushu Institute of Technology). Cell proliferation of human oral cancer-derived cell lines Ca9-22, SAS, HSC-2, KB and immortalized human cell line HEK293, mouse bone marrow cells (BMCs), and human normal epidermal keratinocytes were examined using WST-8-based colorimetric assay. **Results:** Both cNDI and cAQ derivatives effectively suppressed cell proliferation in a dose-dependent manner. Some of them tended to correlated with the expression level of TERT. In addition, they inhibited cell growth of cancer-derived cell lines more strongly compared to human normal keratinocytes and mouse bone marrow cells. **Conclusion:** cNDI and cAQ derivatives are considered to be promising as novel anticancer agents with improved cancer specificity. **Non-member collaborators:** Shinobu Sato, Shigeori Takenaka (Kyushu Institute of Technology)

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-87 RANKL 結合ペプチドは BMP-2 遺伝子発現非ウイルスベクターによる骨形成を促進する

○長弘 茂樹¹, 上原 智己¹, ケオプレクサ², 河井まりこ³, 青木 和広⁴

¹医科歯科大 院医歯 小児, ²医科歯科大 院医歯 咬合機能

³大歯大 薬理, ⁴医科歯科大 院医歯 口腔基礎工

【緒言】 BMP-2 をリコンビナントタンパクとして生体に投与すると、大容量の使用による炎症惹起、精製コストが高い、適切な担体が必要になる等の問題点が生じる。一方、BMP-2 をタンパクとして投与せず、プラスミドベクターを介した遺伝子導入により宿主の細胞に BMP-2 を産生させ、異所性骨誘導をした報告がある。プラスミドベクター等の非ウイルスベクターによる導入は、ウイルスベクターと比較し、安全性は高いが導入効率は悪いため、過去の報告において誘導された骨量は少なかった。そこで、非ウイルスベクターの安全性を確保しつつ十分な骨量を得るためには、BMP-2 の骨形成作用を促進させる必要がある。すでに我々は、RANKL 結合ペプチドが BMP-2 の骨形成作用を促進することを報告している。そこで本研究では、プラスミドベクターを用いた BMP-2 遺伝子導入による骨誘導に RANKL 結合ペプチドを併用することで、骨誘導の安定化および骨形成に影響を及ぼすか否かを検討した。【方法】 8 週齢の C57BL/6J マウスの腓腹筋内に pEGFP-BMP-2 発現プラスミドベクターを注入後、直ちに電気刺激を加え、遺伝子導入を行った。その後実験群では RANKL 結合ペプチド、対照群では溶媒を注入した浸透圧ポンプを背部皮下に埋入した。経時的な *in vivo* μ CT 撮影を行い、遺伝子導入 21 日後に屠殺し、試料採取を行った。【結果】 遺伝子導入 14 日後に撮影した μ CT 画像より、RANKL 結合ペプチド投与群では対照群と比較して骨密度などの骨量パラメーターが有意な増加を示した。遺伝子導入 21 日後においても増加傾向が認められた。また、対照群では骨誘導が認められない個体があったが、RANKL 結合ペプチドを併用するとすべての個体に異所性骨が認められた。【結論】 非ウイルスベクターを用いた BMP-2 遺伝子導入による骨誘導は、RANKL 結合ペプチドの併用により安定化し、骨形成を促進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。

RANKL-binding peptide promotes bone formation by BMP-2 gene expressing non-viral vector

○Nagahiro S¹, Uehara T¹, Keo P², Kawai M³, Aoki K⁴

¹Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, Dept Pediatr Dent

²Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, Dept Orthodont Sci

³Osaka Dent Univ, Dept Pharmacol

⁴Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, Dept Basic Oral Health Eng

Introduction: Although the non-viral BMP-2-gene transfer is safe, ectopic bone induced by non-viral vector is shown to be less compared to the viral-gene-transfer. Since the RANKL-binding peptide is known to promote BMP-2-induced bone formation, we examined whether the RANKL-binding peptide promotes bone formation induced by BMP-2 gene transfer using non-viral vector. **Methods:** After injecting pEGFP-BMP-2 expression plasmid vector into gastrocnemius muscle of 8-week-old male C57BL/6J mice, electroporation was applied for gene transfer. Subcutaneously implanted osmotic pumps were used to administer the RANKL-binding peptide or vehicle. The *in vivo* μ CT was used to monitor the bone formation process by day 21 after the gene transfer. **Results:** The *in vivo* μ CT revealed that the successful induction of ectopic bone was observed in all mice used the RANKL-binding peptide, but not in the control group. Quantitative analyses showed the significant increase of bone-volume-related parameters in the peptide-administered group compared to the control group on day 14. **Conclusion:** The RANKL-binding peptide could induce stable bone formation and promote bone formation induced by the non-viral BMP-2-gene transfer. **Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interests.

P1-88 オキシトシンは眼窩下神経結紮モデルにおける異所性疼痛発症を予防する

○野間 大地^{1,2}, 藤田 智史², 小林 真之²

¹日大 歯 矯正

²日大 歯 薬理

三叉神経傷害はしばしば痛覚過敏やアロディニアのような症状を神経支配領域にとどまらず、異所性にも誘発することが報告されている。これまでに我々は下顎神経の枝である下歯槽神経を切断したモデルラットにおいて、上顎神経に支配される上顎臼歯歯髄を電気刺激した際の大脳皮質応答が増大することを報告している。一方、臨床では切断には至らない症例でも同様の症状が多数報告されている。また最近、半結紮 (PNL) ラットにおける von Frey 刺激に対する逃避閾値がオキシトシンによって上昇することが報告されている。そこで本研究では、眼窩下神経 (infraorbital nerve) の PNL が異所性痛覚過敏を誘発するか否か膜電位感受性色素を用いた光学計測法を用いて検討し、さらにオキシトシンの投与が PNL ラットにおける異所性疼痛に影響するか検討した。【材料・方法】 Sham 手術もしくは結紮 3 日後のラットにウレタン麻酔を施し、下顎臼歯歯髄からの侵害受容情報を受ける左側一次 (S1) および二次体性感覚野と島皮質の境界領域 (S2/IOR) に膜電位感受性色素である RH1691 を 1 時間負荷した。その後、右側下顎臼歯歯髄を電気刺激して大脳皮質で認められる興奮伝播を記録した。【結果・考察】 下顎臼歯歯髄に電気刺激を行うと、S1 および S2/IOR 領域に興奮伝播の誘発を認めた。侵害受容情報処理に重要な役割を果たしていると考えられる S2/IOR 領域で誘発された応答を比較した結果、PNL ラットの応答は Sham ラットと比較して有意に大きかった。また、オキシトシン (1 μ mol) を結紮部に局所的に処置すると、その応答が有意に減弱した。これらのことから右側眼窩下神経の傷害は異所性痛覚過敏を誘発し、オキシトシン処置によって島皮質における興奮性の増大は緩和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。

Application of oxytocin prevents ectopic pain induced by ligation of the infraorbital nerve

○Noma D^{1,2}, Fujita S², Kobayashi M²

¹Dept Orthodont, Nihon Univ Sch Dent

²Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

Nerve injury induces allodynia and hyperalgesia ectopically. Previously, we reported that the inferior alveolar nerve transection enhances the cortical responses to electrical stimulation of the maxillary molar pulp in rats. However, many clinical cases have been reported in which nerve injury without transection induces abnormal pain. In the present study, we performed optical recording with a voltage-sensitive dye to investigate whether such ectopic hyperalgesia is induced by partial ligation of the infraorbital nerve (PNL). In addition, we examined whether oxytocin suppresses the ectopic hyperalgesia in the 3 days after PNL rats. Under urethane anesthesia, the somatosensory and insular cortices were exposed and RH-1691, a voltage-sensitive dye, was applied to the cortical surface. Cortical responses to electrical stimulation of the mandibular molar pulp were larger in PNL rats than sham rats. A local application of oxytocin suppressed the enhancement of cortical responses. These results suggest that PNL induced ectopic hyperalgesia similar to the inferior alveolar nerve transection, and oxytocin is a candidate drug to relief the abnormal pain induced by PNL.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-89 ヒト歯肉線維芽細胞における生理的刺激による Ca^{2+} 応答とフェニトインの作用

○ 藁輪映里佳¹, 根津 顕弘², 倉重 圭史¹, 齊藤 正人¹, 谷村 明彦²

¹北医療大 歯 小児歯

²北医療大 歯 薬理

抗てんかん薬のフェニトイン (PHT) は、服用者の約 50% に歯肉増殖の副作用を起こすことが知られている。これは薬物性歯肉増殖症と呼ばれ、歯肉線維芽細胞 (HGF) の増殖や、コラーゲン代謝の不均衡などの要因が複合して生じると考えられている。PHT は HGF の細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) を上昇させることも報告されている。本研究では、fura2/AM を使用したライブセルイメージング法を用いて、PHT による HGF の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇のメカニズム、および生理活性物質による HGF の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇と PHT の作用について解析した。HGF に $100\mu\text{M}$ の PHT を作用させると $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が上昇し、この反応は細胞外液に Ca^{2+} が存在しない条件でも認められた。次に小胞体内 Ca^{2+} ポンプ阻害剤であるタプシガルギン (ThG) を添加し、 Ca^{2+} ストアが枯渇した状態での PHT の作用を検証した。 $2\mu\text{M}$ の ThG によって $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が上昇し、 $100\mu\text{M}$ の PHT を共添加すると、さらに $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が上昇した。これらの結果から、PHT による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇は、細胞膜に存在する Ca^{2+} 排出機構を抑制することが示唆された。次に、生理的な刺激による Ca^{2+} 応答に対する PHT の作用を調べた。 $10\mu\text{M}$ の ATP 刺激によって HGF の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が上昇し、その後 $100\mu\text{M}$ の PHT を共添加すると $[\text{Ca}^{2+}]_i$ がさらに増大した。この結果から、PHT が ATP などの生理的刺激による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇を増強することが確認された。一方、マウス胎児皮膚線維芽細胞 (NIH3T3) では、 $100\mu\text{M}$ の ATP 刺激によって $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が上昇したが、PHT による Ca^{2+} 応答の増大は認めなかった。また HGF は、 $1\mu\text{M}$ の低濃度の ATP 刺激でも PHT による Ca^{2+} 応答の増大を認めた。これらの結果から PHT による Ca^{2+} 応答の増強は HGF に特徴的な反応であることに加え、HGF が ATP 刺激に対する感受性が高いことが示唆された。今後、ATP の受容体の阻害剤を用いて作用点および、遺伝子発現を解析する。さらに、炎症性サイトカインや成長因子などの生理活性物質による刺激時の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変動と PHT の関連性を検討する。【利益相反】利益相反状態にはありません。

Physiologically stimulated Ca^{2+} response and effects of phenytoin in human gingival fibroblasts

○ Minowa E¹, Nezu A², Kurashige Y¹, Saitoh M¹, Tanimura A²

¹Div Pediatr Dent, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

²Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

Antiepileptic agent phenytoin (PHT) is known to inhibit Na^+ channel and decreases the excitability of neurons. PHT is also known to induce gingival overgrowth which is likely caused by the proliferation of gingival fibroblasts (HGF) and the unbalance of collagen metabolism. In this study, the effects of PHT on the Ca^{2+} responses in HGF were investigated using live cell imaging. In previous study, PHT was found to induce $[\text{Ca}^{2+}]_i$ elevation in the absence of extracellular Ca^{2+} . PHT was also found to enhance Ca^{2+} elevation by Thapsigargin (ThG), an inhibitor of endoplasmic reticulum Ca^{2+} pump. These results suggest inhibitory effects of PHT on the excretion of cytosolic Ca^{2+} . Therefore, the effect of PHT on ATP-induced Ca^{2+} response was next examined. Stimulations with $10\mu\text{M}$ ATP induced elevations of $[\text{Ca}^{2+}]_i$, and the subsequent addition of PHT caused enhanced Ca^{2+} response. In mouse fetal skin fibroblasts (NIH3T3), ATP-induced elevations of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ were not enhanced by PHT. These results suggest that PHT specifically acts on HGF and enhances effects of physiological stimuli, such as ATP, on the elevations of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ by inhibiting excretion of cytosolic Ca^{2+} . **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

P1-90 RANKL 結合ペプチドと BMP-2 との注射により誘導されたマウス上顎骨の経時的变化とスクリー植立の影響

○KEO PREKSA^{1,2}, 松本 芳郎¹, 長弘 茂樹^{2,3}, 青木 和広², 小野 卓史¹

¹医科歯科大 院医歯 咬合機能

²医科歯科大 院医歯 口腔基礎工

³医科歯科大 院医歯 小児

Time-course study of bones induced by the co-injection of RANKL-binding peptide and BMP-2 and the effects of subsequent screw placement in murine maxilla

○Keo P^{1,2}, Matsumoto Y¹, Nagahiro S^{2,3}, Aoki K², Ono T¹

¹Tokyo Med Dent Univ, Grad Sch Med Dent Sci, Dept Orthodont Sci

²Tokyo Med Dent Univ, Grad Sch Med Dent Sci, Dept Basic Oral Health Eng

³Tokyo Med Dent Univ, Grad Sch Med Dent Sci, Dept Pediatr Dent

Purpose: Anatomical variation and vital structures limit orthodontic mini-screw insertion in various parts of the jaws. A recently developed-injection-method to locally induce bone formation, however, might be useful for extending cases of mini-screw placements. Therefore, we examined the existing approach to investigate the long-term stability of the newly formed bone and the effects of the injection on underlying basal bone in relation to the screw placement. Materials & Methods: A split-mouth study was conducted on fourteen 8-week-old C57BL6/J mice by subperiosteal injection of granular type of gelatin hydrogel (GH)-containing OP3-4, receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)-binding peptide, and BMP-2 on day 0. We injected the bone formation materials at the gap between the incisor and the first molar either left or right. The screw placement was performed on day 28 after the injections. Thus, the mice were classified into 4 groups, control (C), new bone formation (B), screw placement (S) and bone formation and screw placement (B/S) groups. After that, calcein and alizarin red were injected on days 31 and 51, respectively. All mice underwent weekly in-vivo micro-focus X-ray computed tomography (micro-CT) analysis before being sacrificed on day 56. Precise bone density measurement was performed by pQCT. Results & Conclusion: As a result, micro-CT analysis of group B revealed the gradually increase of bone mineral density (BMD) of the newly-formed bone by 49 days. The screw placement had no harmful impact on the induced bone since no difference between BMD and bone volume (BV) of B and B/S groups on day 56. pQCT analysis, however, not only confirms the aforementioned results but also reveals the significant increase of BMD of the underlying basal bone of B and B/S groups as compared to those of C and S groups. These results suggest that the injection for inducing newly-formed bone might affect the bone-remodeling process even on the basal maxilla bone region. Histological observations are necessary to confirm these results. In summary, this study highlights the intricate relation between newly-formed bone and basal bone on the basis of bone formation process. The feasibility of subsequent screw placement after inducing the local bone formation was confirmed.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-91 低ホスファターゼ症における石灰化不全改善のための新規治療法の開発

○高橋 有希¹, 棚瀬 稔貴², 松永 智³, 阿部 伸一³, 新谷 誠康², 笠原 正貴¹

¹東歯大 薬理. ²東歯大 小児歯. ³東歯大 解剖

【目的】低ホスファターゼ症 (HPP) は、組織非特異的アルカリホスファターゼ遺伝子 (*TNALP*) の変異により生じる先天性疾患で、硬組織の石灰化不全、呼吸困難、痙攣発作、乳歯の早期脱落を主徴とする。これまでに我々は、8型アデノ随伴ウイルス (AAV8) ベクターによる遺伝子治療により、HPP モデルマウスに対し、単回投与で延命効果が得られることを報告した。しかし、延命効果が得られた治療マウスの大腿骨を解析した結果、伸長不全や石灰化不全、さらに軟骨細胞層の異常増殖などの治癒不全が確認された。したがって本研究では、これらの治癒不全を改善できる至適 AAV ベクター量を検討することとした。**【方法】**生後1日齢の HPP モデルマウスの大腿四頭筋に、*TNALP* を強発現するように構築した AAV8 ベクターを左右大腿四頭筋に 1.5×10^{11} , 7.5×10^{11} , 1.5×10^{12} , 4.5×10^{12} vector genome (v. g.)/body の各用量を筋肉注射し、90日齢で解析を行った。解析項目は、血中 ALP 活性、体重、行動量、大腿骨の放射線学的解析および組織学的解析とした。**【結果】** 4.5×10^{12} v. g./body の高用量で遺伝子治療を行った結果、正常な体重増加、大腿骨の形態不整や伸長不全の改善が確認された。さらにマイクロ CT 解析により、皮質骨の厚径、骨梁の正常配列や骨密度の改善が認められた。また、組織学的解析では、ALP 補充量の増加が確認された一方で、異所性軟骨細胞増殖の残存が認められた。**【考察】**今回の結果より、硬組織に十分な量の *TNALP* を補充することにより、出生後の治療でも硬組織の形態不整や石灰化不全の改善が可能であることが示唆された。このことから、適正量 ALP を補充することにより、重症乳児 HPP 患者の QOL 向上が可能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。

Development of new gene therapy for normal mineralization in hypophosphatasia

○Takahashi A¹, Tanase T², Matsunaga S³, Abe S³, Shintani S², Kasahara M¹

¹Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll

²Dept Pediatr Dent, Tokyo Dent Coll

³Dept Anat, Tokyo Dent Coll

Hypophosphatasia (HPP) is a systemic skeletal disease caused by mutations in the gene encoding tissue-nonspecific alkaline phosphatase (*TNALP*). We recently reported that survival of HPP mice can be prolonged by the use of adeno-associated virus (AAV) vector mediating the expression of *TNALP*. Nevertheless, treated mice still presented abnormal structure of hard tissue. In this study, we assessed the efficacy of ALP replacement closer to optimal levels on the recovery of the bone structure. We generated AAV vector expressing *TNALP*, and injected into the quadriceps femoris muscle of newborn HPP mice at a lower-dose of 1.5×10^{11} v. g./body and a higher-dose of 4.5×10^{12} v. g./body. Body weight, locomotion, radiological images and histological analysis of the treated mice were assessed (n=7). The higher-dose treated mice were normal femur lengths, body weight and improved physical activity. There was no significant difference in the femur bone mineral density between higher-dose treated mice and WT mice. Histological analysis of the femurs on the higher-dose treated mice showed increase of ALP replacement and reduced of abnormal chondrocytes. These results suggest that AAV-mediated high-dose ALP replacement strategy is a promising option for the improvement of the QOL of HPP patients.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-92 全唾液から遠心法を用いて分離した唾液 exosome のポジティブ染色による透過型電子顕微鏡観察

○山本 恵史¹, 芝 清隆², 橋本 貞充³, 笠原 正貴¹

¹東歯大 薬理, ²がん研 蛋白創製, ³東歯大 生物

【緒言】 Exosome とは細胞から放出された 100 nm 程度の膜小胞で、体液に多量に存在し、親細胞由来のタンパク質や核酸を含んでいることから、リキッドバイオプシーの情報源として注目されている。特に唾液に含まれる exosome (唾液 exosome) を標的とする簡便な疾患診断法の開発が期待されている。exosome の形態観察では、しばしば透過型電子顕微鏡 (TEM) が用いられるが、ネガティブ染色での観察がほとんどであり、構造物の断面が観察できるポジティブ染色を応用した報告はほとんどない。また他の体液と比較して唾液には口腔内細菌などが多量に含まれており、遠心法で精製した唾液 exosome にそれらが混入しているかは不明である。そこで本研究は精製過程で生じる各分画サンプルと唾液 exosome 分画に対してポジティブ染色を行い、TEM を用いてその形態を観察した。【方法】 全唾液 10 ml に対して超音波処理を行い粘性を除去した後、2,000 xg (2k), 10,000 xg (10k), 160,000 xg (exosome 分画: 160k) の順で遠心分離を行い唾液 exosome を精製した。2k, 10k, 160k をグルタルアルデヒドで固定し、エポキシ樹脂で包埋した。試料を約 100 nm で薄切し、酢酸ウラニルとクエン酸鉛で染色した後に TEM (H-7650, HITACHI) を用いて観察を行った。

【結果】 100 nm で薄切したことにより、膜小胞などの構造物の断面像を観察することができた。2k と 10k においてマイクロレベルの膜状構造物が観察され、それと同時に口腔内細菌が多量に存在していることがわかった。興味深いことに、口腔内細菌は 2k でなく 10k で多く観察された。対して 160k サンプルでは、ナノレベルの exosome 様の膜小胞が TEM によって観察され、口腔内細菌は 2k と 10k に比べ少ないことがわかった。【結論】 薄切包埋試料を作製したポジティブ染色により唾液 exosome の詳細な構造が観察できた。また、唾液 exosome 分画 (160k) に観察される細菌は、他の分画に比べ少ないことがわかった。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Identification of salivary exosomes isolated by centrifugation with positive staining and transmission electron microscopy

○Yamamoto S¹, Shiba K², Hashimoto S³, Kasahara M¹

¹Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll, ²Div Protein Engin, Cancer Inst, ³Div Biol, Tokyo Dent Coll

Exosomes in body liquid has attracted great attention for liquid biopsy and diagnosis. Exosomes are small membranous vesicles (~100 nm) containing various proteins and nucleic acids from parental cells. Salivary exosomes are chosen as the target to develop an easier diagnostic method. By now, negative staining has been most widely used, but it does not allow a cross-sectional view of exosomes. In this study, positive staining was performed to identify salivary exosomes with transmission electron microscopy. The whole saliva was sonicated and isolated by serial centrifugations including 2k xg, 10k xg and 160k xg to collect exosome samples at 2k, 10k and 160k, respectively. All samples were fixed with glutaraldehyde and embedded with resin. The 100 nm-thick slices were prepared and stained with uranyl acetate and lead citrate. Transmission electron microscopy was employed to observe the samples. The cross-sectional structures of membranous vesicles were successfully observed. Various micro-scale membranous structures and bacteria were identified in 2k and 10k samples. However, 160k samples showed more nano-scale vesicles and less bacteria. In conclusion, positive staining allowed to reveal more detailed cross-sectional structures of salivary exosomes. More exosomes with less bacteria were collected with ultracentrifugation (160k).

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-93 歯原性上皮細胞株と歯髄幹細胞の共培養による Ca^{2+} 応答のイメージング解析

○石田 成美, 村田 佳織, 谷村 明彦

北医療大 院歯 薬理

【目的】 歯の発生過程では、上皮系のエナメル芽細胞と間葉系の象牙芽細胞の相互作用によってエナメル質や象牙質が形成される。SF2 細胞は歯胚原基から採取された歯原性上皮細胞由来の細胞株であり、iPS 細胞や歯髄幹細胞 (DPSC) との共培養によってエナメル芽細胞に分化することが報告されている。本研究では、この細胞間相互作用における Ca^{2+} 応答の役割を明らかにするために、培養条件下での Ca^{2+} 応答を長時間ライブセルイメージング解析を行った。【方法】 カルシウムセンサータンパク質 (G-GECO) を安定発現する歯原性上皮細胞株 (SF2-G-GECO) および歯髄幹細胞 (DPSC) を実験に用いた。蛍光顕微鏡 (Nikon Ti2E) を用いた長時間ライブセルイメージングで、SF2-G-GECO の単独培養および DPSC との共培養による Ca^{2+} 応答を観察した。【結果】 血清存在下の SF2 単独培養では、 Ca^{2+} 濃度の間欠的な上昇が認められた。この自発的な Ca^{2+} 応答は、血清非存在下でも見られたが、血清存在下と比較すると、頻度が大きく低下した。また細胞の局所に強く Ca^{2+} 応答が見られた。SF2 と DPSC の共培養条件下では、SF2 単独条件下と比較して間欠的な Ca^{2+} 濃度の頻度が上昇した。これらの間欠的な Ca^{2+} 応答は、P2Y 受容体である Suramin $10\mu\text{M}$ によって抑制された。一方、Y2X 受容体阻害剤の PPADS ($100\mu\text{M}$) は抑制作用を示さなかった。また EGF 受容体阻害剤の Gefitinib $10\mu\text{M}$ は、間欠的な Ca^{2+} 応答を徐々に低下させた。【考察】 培養条件下の SF2 細胞でみられる間欠的な Ca^{2+} 応答が、比較的低濃度の Suramin で抑制されたことから P2Y 受容体の関与が示唆された。おそらく SF2 細胞あるいは SF2 細胞と DPSC から細胞外に放出される ATP が関与すると考えられる。また Gefitinib の抑制作用から EGF 受容体の関与が示唆されたが、その詳細は今後の検討が必要である。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Spontaneous Ca^{2+} responses of SF2 dental epithelial cells in the co-culture conditions with dental pulp stem cells

○Ishida N, Murata K, Tanimura A

Div Pharmacol Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

During tooth development, enamel and dentine are formed by the interaction between epithelial ameloblasts and mesenchymal odontoblasts. SF2 cells are a cell line derived from dental epithelial cells derived from a tooth germ, and are reported to differentiate into ameloblasts by co-culture with iPS cells and dental pulp stem cells (DPSC). We examined the Ca^{2+} responses in SF2 cells in long-term live cell Ca^{2+} imaging using a calcium sensor protein (G-GECO)-expressing SF2 cells. In this study, SF2 cells showed intermittent elevations of intracellular Ca^{2+} concentrations ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) in the cell culture condition. When SF2 cells were co-cultured with DPSC, SF2 cells showed an increase in the frequency of the intermittent Ca^{2+} responses. These Ca^{2+} responses were suppressed by Suramin ($10\mu\text{M}$), the inhibitor of P2Y receptors. On the other hand, PPADS ($100\mu\text{M}$), a P2X receptor inhibitor, did not show suppressive effect. The EGF receptor inhibitor Gefitinib ($10\mu\text{M}$) gradually reduced the intermittent Ca^{2+} response. Our results suggest that the activation of P2Y receptors by ATP released from SF2 cells and/or DPSC cells on the intermittent Ca^{2+} response in SF2 cells under culture conditions.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P1-94 シリカ製不織布を用いた新規蛍光アッセイ法の開発

○Jahan Azmeree, 石田 成美, 谷村 明彦
北医療大 歯 薬理

Development of a novel fluorescent assay system with non-woven fabric of carboxylic acid-modified silica

○Jahan A, Ishida N, Tanimura A

Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ of Hokkaido

Purpose We have developed a method "Competitive Fluorescence Ligand Assay (CFLA)". This method uses FRET signal with the binding of fluorescent ligands to the fluorescent ligand binding protein, and the decrease in FRET signal with the competitive binding of non-labeled ligands. To extend CFLA for more practical application, we tried to develop a new method using the non-woven fabric made of the carboxylic acid (-COOH)-modified silica (NWF-COOH). Large surface area of NWF and the surface modification with carboxylic acid allow a covalent binding of large number of fluorescent molecules on NWF. We took these advantages for developing new type of fluorescent sheet sensors. **Methods** NWF-COOH was supplied by Japan Vilene Co., Tokyo, Japan. To immobilize proteins or peptides, carboxyl groups on NWF were activated by N-hydroxysuccinimide (NHS) and carbodiimide (EDC) allowing to form an NHS ester for the efficient conjugation to primary amines. Fluorescence on the NWF were examined with fluorescent microscopy, confocal microscopy, and fluorescent plate reader. **Results** We first examined methods for the optimal binding using the fluorescent peptide FT1 that consists of 30 amino acids with DYK-Tag, LumioTag, HisTag, and FITC. The specific binding of FT1 increased in a concentration-dependent manner and showed the maximum binding at 30 μ M. We also found that 1hr-incubation was sufficient for the binding of FT1 on NWF-COOH. We next treated NWF-COOH and DYK-beads with 10 μ M FT1 for 1 hr, and examined the fluorescence using confocal microscopy. In NWF-COOH, fluorescence was found on the thin surface less than 0.1 μ m. In DYK-beads, on the other hand, fluorescence was observed inside to the beads and the thickness was more than 10 μ m. We then compare the response rate of NWF and DYK-beads by the pH-dependent changes in fluorescence of FITC on FT1. Fluorescence of FT1-bound NWF was decreased to ~50% and stabilized within ~1 sec, whereas the decrease in fluorescence of FT1-bound beads was stabilized ~10 sec after changes in pH. These results confirm the quicker response of the NWF sensor than agarose beads due to the thickness in the distribution of fluorescent molecules. **Conclusion** We established a method to bind peptides and proteins on NWF-COOH. We will apply this method for the measurement of (IP₃) using NWF with the binding of LBP-cpCs, fluorescent sensor proteins for CFLA-(IP₃). In addition, we will try to apply the competitive FRET method for the development of novel assay systems using the antigen-antibody reaction.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-01 *Porphyromonas gingivalis* gingipains による COX2 発現と PGE2 産生における細胞内カルシウムの関与

○中山 真彰^{1,2}, 内藤真理子³, 中山 浩次³, 大原 直也^{1,2}

¹岡大 院医歯薬 口腔微生物, ²岡大 歯 先端研セ, ³長大 院医歯薬 口腔病原微生物

Porphyromonas gingivalis (*Pg*) は慢性歯周炎に深く関わる口腔細菌である。歯周炎では COX-2 の発現と PGE2 の産生が認められる。我々はこれまでに、*Pg* が産生するジンジパインが COX-2 の発現と PGE2 の産生に関与することを示してきた。本会では、ジンジパインによる COX-2 発現誘導の分子機序を詳細に明らかにするために、宿主細胞内カルシウムの関与に着目して研究を行ったので発表する。ヒト単球由来細胞株 THP-1 におけるジンジパインが誘導する COX-2 発現に対する細胞内カルシウムの影響について調べるために、細胞内にカルシウムの流入を起こすイオノマイシンと細胞内カルシウムキレート剤である BAPTA-AM, *Pg* の野生株 (WT 株) とジンジパイン欠損株 KDP136, およびジンジパイン阻害剤 KYT1/36 を用いて、感染実験による比較解析を行なった。イオノマイシン処理した THP-1 細胞においては、KDP136 株の感染とジンジパイン阻害剤 KYT1/36 の処理により COX-2 発現が認められたが、WT 株感染では COX-2 発現がさらに増加し、かつイオノマイシン処理濃度依存的に COX-2 発現増加が認められた。BAPTA-AM で処理した THP-1 細胞では、WT 株や KDP136 株の感染および KYT1/36 処理における COX-2 発現は顕著に抑制された。従って、ジンジパインによる COX-2 発現には細胞内カルシウムが関与することが示唆された。次にイオノマイシンおよび BAPTA-AM で処理した THP-1 細胞に WT 株を感染させ、IKK と ERK1/2 のリン酸化レベル、および c-Jun と c-Fos の発現とそれらのリン酸化レベルを調べた。その結果、イオノマイシン処理では IKK と ERK1/2 のリン酸化レベルや c-Jun と c-Fos の発現とリン酸化レベルに大きな変化は認められなかった。しかし、BAPTA-AM 処理では IKK と ERK1/2 のリン酸化レベル、および c-Jun と c-Fos の発現はともに顕著に抑制された。以上のことから、ジンジパインによる COX-2 発現誘導には細胞内カルシウムを必要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。

Involvement of intracellular calcium on *Porphyromonas gingivalis* gingipains-induced COX-2 expression and PGE2 production

○Nakayama M^{1,2}, Naito M³, Nakayama K³, Ohara N^{1,2}

¹Dept Microbiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

²ARCOCS, Okayama Univ Dent Sch

³Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Porphyromonas gingivalis (*Pg*) is an oral bacterium deeply involved in chronic periodontitis. Periodontitis has COX-2 expression and PGE2 production. We previously showed that gingipains from *Pg* was associated with COX-2 expression and PGE2 production in THP-1 cells. In this study, we examined the relationship between intracellular Ca²⁺ and gingipains-induced COX-2 expression/PGE2 production. Ionomycin (INM) and BAPTA-AM (BPT) were utilized to examine the effect on gingipains-induced COX-2 expression. COX-2 expression by infection of *Pg* wild-type (WT) strain was increased at a concentration dependent manner by INM, and decreased at a concentration dependency of BPT treatment. Hence, we suggested that intracellular Ca²⁺ is probably required for with gingipains-induced COX-2 expression in *Pg* infection. Next, we examined the phosphorylation of IKK and ERK, and the expression and phosphorylation of c-Jun and c-Fos in WT strain-infected cells treated with INM and BPT. As a result, after treatment of INM, there was little change in the phosphorylation both IKK and ERK. However, the phosphorylation of IKK and ERK, and the expression and phosphorylation levels of c-Jun and c-Fos were significantly inhibited by BPT. Taken together, intracellular Ca²⁺ was involved in COX-2 expression induced by gingipains in *Pg* infection. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

P2-02 歯周病細菌 *Prevotella intermedia* のジペプチダーゼの同定： C69.001 ファミリージペプチダーゼ A の N 末特異性の再定義

○Sarwar Tanvir, 根本 優子, 小野 俊雄, 根本 孝幸

長大 医歯薬 口腔分子生化

Identification of an Arg-Specific Dipeptidase A from *Prevotella intermedia*: Revisiting substrate specificity of C69.001-family

○Sarwar MT, Ohara-Nemoto Y, Ono T, Nemoto T

Dept Oral Mol Biol, Nagasaki Univ Course of Med and Dent Sci

[Purpose] *Prevotella intermedia* is a gram-negative anaerobic rod, frequently observed in subgingival polymicrobial biofilms of adults with chronic periodontitis. It has been believed that various peptidases are involved in the growth and periodontal disease. In this congress of 2018, we demonstrated the expression of a cysteine peptidase with an aminopeptidase activity specific for Arg-4-methycoumaryl-7-amide (MCA) in this bacterium, and identified BAU17746 belonging to the C69.001 family as the entity. In the present study, however, we correct that BAU17746 is not an aminopeptidase, but an Arg-specific dipeptidase.

[Materials & Methods] Recombinant forms of cysteine peptidases belonging to C69.001 family from *Pre. intermedia*, *Lactobacillus helveticus*, and *Tannerella forsythia* were expressed in *Escherichia coli*. Aminopeptidase activity was measured with aminoacyl-MCA and dipeptidase activity was measured with dipeptides and detected by the ninhydrin method. **[Results & Conclusion]** Although BAU17746 specifically hydrolyzed Arg-MCA, it never hydrolyzed Arg-Arg-MCA as well as Arg-Leu-Asp-MCA in combination with dipeptidyl-peptidase 11, which cleaves Leu-Asp-MCA. Thus, we supposed that Arg-MCA was recognized as a dipeptide by BAU17746. In fact, dipeptidase assay revealed that BAU17746 is a dipeptidase specific for P1-position (N-terminal) Arg. Re-examination on *Lactobacillus helveticus* dipeptidase A, the representative of the C69.001 family, which had been reported to be specific for P1 Leu, also revealed Arg specificity. We finally propose that Arg-Leu and Arg-Phe are the best substrates for the C69.001-family dipeptidase A. Nevertheless, Arg specificity was not general on all C69.001 dipeptidase A, because *Tannerella forsythia* dipeptidase A (MER0284871) possessed the activity most preferential for P1 Leu. Taken together, this study identified a dipeptidase A of *Pre. intermedia* belonging to the C69.001 family and further demonstrated a variation in the P1-position preference in the C69.001 family.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-03 抗菌ペプチド LL-37 がヒト歯肉線維芽細胞に誘導するケモカイン産生および細胞毒性における P2X₇受容体の関与

○猪俣 恵, 引頭 毅

朝日大 歯 口腔微生物

LL-37はカテリシジンファミリーに属する抗菌ペプチドであり、好中球や歯肉上皮細胞から分泌されパラクラインに歯肉線維芽細胞 (HGF) に作用する。我々は以前、HGFの *Porphyromonas gingivalis* (Pg) 菌体や Pg LPS に対するケモカイン産生を LL-37 が強力に抑制することを見出した。また昨年の研究発表では、HGFにおいて LL-37 が特定の Toll 様受容体 (TLR) の発現を抑制するとともに TLR シグナル抑制分子の発現を増強することで抗炎症作用を発揮する可能性について報告した。本研究では LL-37 が HGF に及ぼす影響について、LL-37 の受容体として報告されている P2X₇受容体の関与を含め調べた。LL-37 はある一定濃度以上で HGF に対して細胞毒性を示した。細胞毒性を示さない濃度の LL-37 は IL-8 等のケモカインの発現を誘導した。P2X₇受容体は HGF において発現しており、その発現は LL-37 を作用させると増加した。P2X₇受容体のアンタゴニストは LL-37 による細胞毒性とケモカインの発現の両者を抑制した。しかしながら、P2X₇受容体のアンタゴニストは Pg LPS に対する LL-37 の抗炎症作用には影響を及ぼさなかった。これらの結果により、LL-37 は HGF に作用した後、P2X₇受容体を介して細胞毒性およびケモカインの発現を誘導していると考えられた。一方で HGF 周囲に Pg のようなグラム陰性菌が存在する場合には、LL-37 は LPS によるケモカインの誘導を P2X₇受容体に非依存的に抑制し、過剰に炎症応答が起きないように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。

Involvement of P2X₇ receptor in chemokine production and cytotoxicity induced by the antimicrobial peptide LL-37 in human gingival fibroblasts

○Inomata M, Into T

Dept Oral Microbiol, Asahi Univ Sch Dent

LL-37, a family member of the antimicrobial peptide cathelicidins, is released from neutrophils and oral epithelial cells, affecting human gingival fibroblasts (HGFs) in a paracrine manner. We previously reported that LL-37 potently suppresses *Porphyromonas gingivalis* (Pg) whole cells- or Pg LPS-induced chemokine production in HGFs. We also showed that LL-37 induces anti-inflammatory effects through alteration in the expression of specific Toll-like receptor-associated genes. In this study, we examined the effects of LL-37 on HGFs, including the involvement of P2X₇ receptor, which has been reported as a receptor for LL-37. LL-37 induced cytotoxicity to HGFs. LL-37 upregulated the expression of chemokines, such as IL-8. LL-37 increased the expression of P2X₇ receptor, which was constitutively expressed in HGFs. The P2X₇ antagonist suppressed both cytotoxic and pro-inflammatory effects of LL-37, but not its anti-inflammatory effect. Our results suggest that LL-37 exerts both cytotoxic and pro-inflammatory effect via P2X₇ receptor in HGFs. On the other hand, LL-37 suppresses LPS-induced chemokines to prevent excessive inflammatory response in HGFs under stimulation with gram-negative bacteria such as Pg.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-04 *Candida albicans* の宿主内生存戦略におけるオートファジーの生理機能の解析

○堀江 哲郎, 那須 優則

日歯大 生命菌 共同利用研究セ

Candida albicans は口腔内に存在する常在性真菌で、健常人には不利益を与えない。しかし宿主の健康状態の悪化により局所的な日和見感染症を引き起こす。特に加齢やがんの化学治療、AIDS などによって免疫機能が低下した宿主においては全身性カンジダ症に移行する可能性があり、その場合には致死率が40%を超える。本菌は歯科補綴物やレジン床義歯に親和性が高く、それらの表面でバイオフィームを形成することで、抗真菌剤に対する抵抗性を獲得する。本菌が酵母形と菌糸形を切り替える二形性真菌であり宿主内で形態を著しく変えること、また動物細胞と同じ真核生物であり、その細胞内プロセスが類似しているため、有効な選択的薬剤が限られていることが治療を困難としている。*C. albicans* の宿主内生存戦略の基礎的な理解が重要である。オートファジーは窒素飢餓条件下で誘導され、細胞内で大規模なタンパク質の分解、アミノ酸のリサイクリングを行うことが知られている。しかし、オートファジーは様々な栄養素の飢餓により誘導され、細胞内の広範な栄養素のリサイクリングに関与しており、その生理的役割は極めて広い。*C. albicans* の宿主内生存戦略においても、なんらかの寄与をしている可能性が高い。そこで我々は、宿主内で生育時の本菌におけるオートファジーの役割を明らかとするために研究を行った。*C. albicans* のオートファジー関連遺伝子(*CaATG*)の破壊株を作製し、菌糸形成能、バイオフィーム形成能の解析や、本菌内でのオートファジーによる代謝への影響を調べるためにメタボローム解析を行った。本年会では、それらの結果を踏まえて、*CaATG* 遺伝子の本菌の宿主内での生存戦略での生理的役割について議論したい。

(共同研究者：東京工業大学・大隅良典教授・川俣朋子助教)

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Analysis of physiological roles of autophagy of *C. albicans* in host cell environment

○Horie T, Nasu M

Res Cent for Odontol, Sch Life Dent at Tokyo, The Nippon Dent Univ

Candida albicans is the most common commensal fungal pathogen isolated from the oral cavity. It causes opportunistic mucosal infection, which, in immunocompromised individuals, leads to systemic infection with mortality rates of more than 40%. *C. albicans* is a dimorphic fungus that can grow in both yeast and hyphal forms in hosts. It develops biofilms preferentially on the surface of dental prostheses and acquires resistance to antifungal reagents. Also, as a eukaryote, it has cellular processes similar to those of mammalian cells, so there are a limited number of specific antifungal drugs that are effective against *C. albicans* infection. These traits make it difficult to treat candidiasis. Thus, complete elucidation of the virulence mechanisms and survival strategies of *C. albicans* in hosts is needed. One possible survival strategy of *C. albicans* is autophagy, which is the process of recycling degraded cell compartments in response to nutrient starvation. In order to examine this possibility, we created the disruptants for autophagy-related genes (*CaATGs*) to examine their hyphal formation, biofilm formation, and metabolomic profiles. We will report on the relationship between the survival strategies of *C. albicans* in hosts and the *ATG* genes at the meeting.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-05 次世代シーケンサーによる総義歯バイオフィルムの菌叢解析及びモデルバイオフィルムの構築

○濱田 昌子¹, 富岡 寿也¹, 柴田健一郎², 五味 満裕¹

¹小林製薬 中央研

²北大 院歯

義歯バイオフィルムの洗浄は、口臭抑制のみならず口腔の健康維持に不可欠である。本研究では、総義歯バイオフィルムの詳細な解析により優占種を特定し、得られた知見に基づき義歯洗浄剤の有効性を適切に評価するためのモデルバイオフィルムの構築を試みた。本研究は北海道大学大学院環境科学院地球環境科学研究所の倫理審査委員会の承認を得て行った（平成29年6月16日付）。上顎総義歯装着者10名を被検者とし、義歯両面からバイオフィルムを回収した。次世代シーケンスおよび単離培養法により、バイオフィルムの菌叢解析を行った。その結果、バイオフィルムの細菌叢は *Streptococcus* 属, *Actinomyces* 属, *Veillonella* 属, *Rothia* 属の計4属で全体の約60%が占められ、真菌の優占種は *C. albicans* であることが明らかとなった。次に、バイオフィルムの優占細菌4種と *C. albicans* の各種組合せにて、義歯床の汎用素材であるレジン表面にバイオフィルムを形成させ、クリスタルバイオレット染色にて形成量を評価した。その結果、組み合わせる菌種によってバイオフィルム形成量が様々に異なることが明らかとなった。また、培地へのスクロース添加によりバイオフィルム形成量が劇的に増加した。バイオフィルム形成量の増加は *S. salivarius* と *C. albicans* がスクロースから産生した細胞外高分子に起因する可能性が示唆された。非会員共同研究者：森川正章（北大 院環境）

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Analysis of microbial flora of full-denture biofilm using next-generation sequencing and development of a model biofilm on full-dentures

○Hamada S¹, Tomioka T¹, Shibata K², Gomi M¹

¹Kobayashi Pharmaceut Co., Ltd. Central R&D Lab

²Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Cleansing denture biofilm is important for preventing oral malodor and keeping the oral cavity healthy. The objective of this study was to identify the dominant microorganisms in denture biofilm and to develop a suitable model biofilm for evaluating the efficacy of denture cleaners. The biofilms on full-dentures of ten patients who visited a private dental clinic were collected. Microbial flora of all full-denture biofilm (FDB) was analyzed using next-generation sequencing and by isolating microorganisms. We found that the dominant bacterial genera of the FDB were *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Veillonella*, and *Rothia*, constituting approximately 60% of the FDB tested, *Candida albicans* was isolated and identified as the dominant fungal species. Using the four dominant bacterial species and *C. albicans*, we evaluated the amount of biofilm. The combination of these strains markedly varied in the amount of biofilm. Addition of sucrose to the medium considerably increased the amount of biofilm formed, suggesting that the extracellular polymeric substances (EPS) of *S. salivarius* and *C. albicans* increases the biofilm mass. Non-Member Collaborator: Masaaki Morikawa (Hokkaido Univ Grad Sch Env Earth Sci Div Biosphere Sci)
Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-06 *Fusobacterium nucleatum* 硫化水素産生酵素阻害剤の探索

○毛塚雄一郎¹, 吉田 康夫²

¹岩医大 薬 構造生物

²愛院大 歯 微生物

【目的】口腔細菌によって産生される揮発性硫化物は口臭の主要な原因物質である。*Fusobacterium nucleatum* は少なくとも4種類の硫化水素産生酵素を持つことが知られている。*fn1220* 遺伝子がコードするランチオニンシンターゼは、L-システインに起因する主要な硫化水素産生源であることが報告されている。本研究では、口臭予防に寄与する薬剤の開発を目的としてランチオニンシンターゼに対する化合物スクリーニングを実施した。【方法】酵素反応により産生される硫化水素からメチレンブルーを生成させ、比色法により活性を検出するアッセイ系を96ウェルプレート上に構築した。富山大学和漢医薬学総合研究所および理化学研究所より提供を受けた化合物ライブラリーを用いて一次アッセイを実施した。さらに原理の異なる高次アッセイにより偽陽性を排除した後、ヒット化合物の類似体に対してもアッセイを実施した。50%阻害濃度を測定し、阻害活性を評価した。【結果と考察】一連のアッセイにより最終的に2種類の阻害剤候補化合物が得られた(化合物AおよびB)。化合物Aおよびその部分構造である化合物Bはほぼ同等の阻害を示し、50%阻害濃度(IC₅₀)はそれぞれ7.2±0.6μMと8.3±0.9μMであった。化合物Bはその類似体の中で最も高い阻害活性を示したことから、化合物Bが阻害をもたらす最小単位であることが考えられた。一方で、化合物AとBは酵素との結合が遅く、最大阻害を示すまでにそれぞれ約60分と40分を要した。ランチオニンシンターゼに32%のアミノ酸のアイデンティティを持つシステインヒドロキシリアーゼに対する化合物AおよびBの阻害率を求め、候補化合物の選択性についても検討した。(平成29年度若手研究者助成制度採択課題の成果報告, 会員外共同研究者: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。

Searching for novel inhibitors to a hydrogen sulfide-producing enzyme from *Fusobacterium nucleatum*

○Kezuka Y¹, Yoshida Y²

¹Div Struct Biol, Iwate Med Univ Sch Pharm

²Dept Microbiol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent

Volatile sulfur compounds produced by oral bacteria are causative agents of oral malodor. *Fusobacterium nucleatum* is known to have at least four hydrogen sulfide-producing enzymes. A lanthionine synthase encoded by *fn1220* gene is reported to be a main source of hydrogen sulfide production in this bacterium. In this study, we carried out compound screening, and finally identified and evaluated novel inhibitors of the enzyme. First, we constructed an assay system that detect hydrogen sulfide by the methylene blue spectrophotometric method in a 96-well microplate. Compounds libraries were provided by University of Toyama and RIKEN. Further assays were performed to eliminate false-positive hit compounds. The compounds were then evaluated by determining half maximal inhibitory concentration (IC₅₀). We finally obtained two hit compounds referred to as compounds A and B. Compound B is a partial structure of compound A. They both showed almost identical inhibitory effects on the activity of lanthionine synthase, with an IC₅₀ values of approximately 8.0μM. On the other hand, the compounds were likely to be slow-binding inhibitors. The selectivity of compounds was also evaluated using *F. nucleatum* cysteine (hydroxyl) lyase which exhibits 32% amino acid sequence identity with lanthionine synthase.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-07 フッ化物による歯周病関連菌 *Porphyromonas gingivalis* の増殖・代謝の抑制効果

○土門ひと美¹, 鷲尾 純平¹, 安彦 友希¹, 川嶋 順子², 高橋 信博¹

¹東北大 院歯 口腔生化

²東北大 東北メディカル・メガバンク機構 ゲノム解析

【目的】歯周病関連菌は、主にタンパク質やジペプチドを基質として増殖することが知られている。我々は、既に、フッ化物(3.7ppmF)が *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*)の増殖を抑制することを報告した。しかし、*Pg*のタンパク質分解酵素(ジンジパインおよびジペプチジルジペプチダーゼ)に対しては、フッ化物が抑制効果を示さないことも示している。そこで、今回、*Pg*におけるタンパク質分解以降の代謝を触媒する酵素に対するフッ化物の影響を検討した。【方法】*Pg* ATCC33277^Tおよび *Pg* JCM8525 を嫌気条件下で各濃度のフッ化物(0~950 ppm F)を混合した培地で培養し、48時間後までの増殖を吸光度計使用して測定した。さらに、同じ条件下で24時間培養した *Pg* ATCC33277^Tの最終代謝産物および菌体内中間代謝物の量の変化を、それぞれHPLCおよびCE-TOFMSを用いて測定した。【結果】*Pg* ATCC33277^Tでは3.7ppm Fといった低濃度のフッ化物で有意な増殖の抑制がみられ($p < 0.01$)、14.8ppmFでほぼ増殖が停止した($P < 0.001$)。*Pg* JCM8525でも同様であり、29.7ppmFでほぼ増殖が停止した($p < 0.05$)。*Pg* ATCC33277^Tのいくつかの最終代謝産物は、7.4 ppmF以上でほぼ均等に減少した($p < 0.05$)。その時、酸化脱炭酸反応に関する中間代謝物が蓄積した($p < 0.05$)。【考察】フッ化物は低濃度でも *Pg*の増殖を抑制することが示された。さらに最終代謝産物および菌体内中間代謝物の変化から、フッ化物は *Pg*の酸化脱炭酸に関わる酵素を阻害することが示唆された。現在、フッ化物によって阻害される酵素の特定を急いでいる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Fluoride inhibits the growth and the metabolism of *Porphyromonas gingivalis*

○Domon H¹, Washio J¹, Abiko Y¹, Kawashima J², Takahashi N¹

¹Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

²Div Integrative Genomics, Tohoku Medical Megabank Organization, Tohoku Univ

Objective: A periodontitis-associated bacterium, *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), is known to utilize proteins/peptides for their growth. We reported that fluoride (3.7 ppm F) inhibited the *Pg* growth, while fluoride did not inhibit the protein-degrading enzymes (gingipains and dipeptidyl peptidases) of *Pg*. Thus, the present study aimed to elucidate inhibitory steps in the *Pg* metabolic pathway after the protein degradation. Methods: *Pg*33277^T and *Pg* JCM 8525 were grown anaerobically in culture medium with fluoride (0-950 ppm F) at 37°C. The bacterial growth was monitored photometrically. *Pg* cells grown for 24 hr under the identical conditions were used to analyze the end-products and intracellular metabolic intermediates using HPLC and CE-TOFMS, respectively. Results: Fluoride (14.8 ppm F) inhibited the growth of *Pg*33277^T completely. Similarly, 29.7 ppm F inhibited the growth of *Pg* JCM8525 completely. At > 7.4 ppm F ($p < 0.05$), the level of end-products was decreased, while metabolic intermediates involved in the oxidative decarboxylation were accumulated ($p < 0.05$). Conclusion: The low fluoride could inhibit the growth of *Pg* and altered the levels of end-products and metabolic intermediates, suggesting that fluoride inhibit the enzyme involved in the oxidative decarboxylation. Currently, we are trying to identify which enzymes are inhibited by fluoride.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-08 歯周基本治療における乳酸菌配合タブレット継続摂取の併用が口腔細菌叢に与える影響

○中野 善夫¹, 谷口 奈央², 太田 純明³, 埴岡 隆²

¹日大 歯 化学

²福歯大 口腔保健

³おたデンタルクリニック

【目的】乳酸菌 *Lactobacillus salivarius* WB21 株 (WB21) を配合したタブレットの継続摂取は、口臭や歯周炎を改善することが報告されている。本研究では、歯周基本治療において WB21 配合タブレット継続摂取を併用した場合に、歯周基本治療のみの場合と比較して治療前後の口腔細菌叢変化に違いが生じるかどうかを明らかにするために、プラセボ対照二重盲検ランダム化比較試験を実施した。【方法】福岡市の歯科医院を受診した慢性歯周炎患者のうち、研究に賛同し参加への意思表示を示した 10 名 (男性 3 名, 女性 7 名, 平均年齢 53.9 ± 7.2 歳) を対象とした。初診時に歯周組織検査を行った後、WB21 タブレットあるいはプラセボタブレットを手渡し、一日 3 回、食後に 1 粒を継続して舂めるよう指示した。続いて、スケーリング・ルートプレーニングを実施し、処置終了から一ヶ月後の再評価時に唾液を採取し、次世代シーケンス解析 (MiSeq) により細菌構成を分析した。本研究は福岡学園倫理審査委員会の承認を得て実施した (承認番号第 336 号)。【結果】臨床所見は WB21 群 (5 名) とプラセボ群 (5 名) のいずれにおいても改善した。各細菌属の変化量を 2 群間で比較したところ、*Prevotella*, *Veillonella*, *Leptotrichia*, *Atopobium*, *Moryella* 等が WB21 群で減少、プラセボ群で増加した。一方 *Streptococcus*, *Rothia*, *Haemophilus*, *Campylobacter*, *Filifactor* 等は WB21 群で増加、プラセボ群で減少した。【結論】WB21 群とプラセボ群とで異なる変動をする細菌属があった。口腔細菌叢変化の違いが予後に与える影響等について今後の検討課題としたい。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effect of continuous intake of tablets containing lactic acid bacteria on oral bacterial composition in periodontal treatment

○Nakano Y¹, Taniguchi N², Ota Y³, Hanioka T²

¹Dept chem, Nihon Univ Sch Dent

²Dept Prev & Pub Health Dent, Fukuoka Dent Coll

³Ota Dent Clin

Aim: This study aimed to evaluate the effects of continuous ingestion of *Lactobacillus salivarius* WB21 tablets on periodontal treatment by examining changes in microbial composition. Methods: Study subjects were 10 patients with chronic periodontitis who had visited a private dental office in Fukuoka. We gave patients WB21 tablets or placebo tablets at the first visit and instructed to continue licking one tablet at three times a day. Saliva was collected at the first visit and at the reevaluation after scaling and root planing, and bacterial composition was analyzed by next generation sequence analysis (MiSeq). Results: The clinical findings in all patients improved at the reevaluation. The proportions of *Prevotella*, *Veillonella*, *Leptotrichia*, *Atopobium*, and *Moryella* decreased in the WB21 group but increased in the placebo group. On the other hand, the proportions of *Streptococcus*, *Rothia*, *Haemophilus*, *Campylobacter*, and *Filifactor* increased in the WB21 group but decreased in the placebo group. Conclusion: Before and after periodontal treatment, changes in proportions of several bacterial genera were different between the WB21 tablet intake group and the placebo group.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-09 *Candida albicans* 薬剤排出ポンプ Cdr1p 阻害剤の探索

○福井佳代子¹, 原 基¹, 桑島 治博¹, 今井あかね^{2,3}, 仲村健二郎¹

¹日歯大新潟 薬理, ²日歯大新潟 生化, ³日歯大新潟短大

【目的】7-benzylidenenaltrexone (BNTX) は δ_1 オピオイド受容体拮抗薬であり, マラリアのクロロキン耐性を解除すると報告されている. 昨年, 我々は BNTX が *Candida albicans* の薬剤耐性に関わる薬剤排出ポンプ (Cdr1p) において薬剤 (Fluconazole) が排出されるのを抑える効果を報告した. 今回, 麻薬拮抗薬 Levallorphan (オピオイド受容体拮抗薬) や抗菌性環状リポペプチド Fengycin などの薬物が BNTX と同様の効果を示すのではないかと考え, *C. albicans* の薬剤排出ポンプに影響を及ぼすか調査することを目的とした. 【方法】薬剤排出に関連する7個の主要なトランスポーター遺伝子を欠損させたパン酵母 AD1-8u⁻ (親株) と, 親株に *C. albicans* の CDR1 遺伝子を組み込み高発現させたパン酵母 AD1-8u⁻Cdr1 (耐性株) を用い, Fluconazole (FLCZ) 耐性に対する一定量の BNTX の耐性解除作用を微量液体希釈法で調べた. Levallorphan, Fengycin などの薬物についても同様に微量液体希釈法を用いて検討した. 【結果と考察】BNTX は, 耐性株に対する FLCZ の抗真菌作用に 40 μ M で拮抗作用を示した. これにより BNTX は, *C. albicans* の薬剤排出ポンプ Cdr1p を阻害して FLCZ 耐性を解除することが示唆された. 同様に Levallorphan が 20 μ M で FLCZ 耐性を解除する効果を示した. 近年, FLCZ 耐性などの抗真菌薬の耐性が問題となり対策が求められている. 本研究の結果より, 薬剤排出ポンプ Cdr1p を阻害する薬剤を用いると FLCZ 耐性が解除され抗真菌効果の回復が得られると推察された.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

Exploration of effective inhibitors for drug efflux pump Cdr1p to avert fluconazole resistance in *Candida albicans*

○Fukui K¹, Hara H¹, Kuwashima H¹, Imai A^{2,3}, Nakamura K¹

¹Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ at Niigata

²Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

³Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ at Niigata

< Introduction > Drug efflux pumps facilitate drug resistance, posing major clinical challenges during treatment. Studies have shown that 7-benzylidenenaltrexone (BNTX), a selective δ_1 -opioid receptor antagonist, effectively reversed chloroquine-resistance in Malaria cells. Previously, we have shown the effect of BNTX on drug efflux-pump Cdr1p in *Candida albicans*. In this study, we report the effects of opioid receptor antagonist Levallorphan, BNTX, and Fengycin on Cdr1p. < Materials & Methods > *Saccharomyces cerevisiae* AD1-8u⁻ strain with seven disrupted major drug resistance associated transporters was used as a parent strain. AD1-8u⁻Cdr1 strain, inserted with CDR1 gene by homologous recombination into the parent strain, was used as the experimental strain. The antagonistic activity of BNTX and Levallorphan towards fluconazole was evaluated by microdilution method using CSM (complete supplement mixture) medium with or without the fixed amount of each tested agent. < Results & Discussion > Both BNTX and Levallorphan demonstrated effective reversal of fluconazole resistance in AD1-8u⁻Cdr1 strain at 40 μ M and 20 μ M doses respectively. These results indicate that both, BNTX and Levallorphan, work antagonistic to Cdr1p, which mediates drug (fluconazole) resistance in *Candida albicans*. Since limited antifungal drugs are available for clinical use, it is crucial to explore effective drug resistance reversers for their sustained application.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-10 *Porphyromonas gulae* LPS による TLR2 / TLR4 を介した免疫応答制御の 解明

○稲葉 浩明, 吉田 翔, 仲野 道代

岡大 院医歯薬 小児歯

【目的】動物由来歯周病関連菌 *Porphyromonas gulae* は, *Porphyromonas* 属の新種としてヒト以外の動物から分離され, 犬などの伴侶動物あるいはヒト歯周病変部位から高頻度で検出される. *P. gulae* はヒト由来歯周病原菌 *P. gingivalis* と同様に Lipopolysaccharide (LPS) を有しており, 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. 本研究では *P. gulae* LPS 刺激に対するヒト歯肉上皮細胞株の炎症反応とその制御機構を評価した. 【方法】LPS は LPS Extraction kit (iNtRON) を用いて *P. gulae* ATCC51700 株から精製した. ヒト歯肉上皮細胞を LPS で刺激後, 通法に従い Total RNA を抽出し cDNA を合成した. Toll 様受容体である TLR2 と TLR4, 炎症性メディエーターである COX2 ならびに炎症性サイトカインである TNF- α , IL6, IL8 mRNA の発現は, real-time PCR 法により評価した. また, p38 ならびに ERK シグナル伝達経路は Western blot 法により解析した. 【結果】*P. gulae* LPS は TLR2 と TLR4 mRNA 発現を濃度依存性に増強した. さらに, *P. gulae* LPS 刺激により COX2, TNF- α , IL6 ならびに IL8 mRNA 発現が顕著に増加した. TLR2 ならびに TLR4 ノックダウン細胞では, p38 と ERK1/2 のリン酸化が抑制され, 炎症反応も同時に抑制された. 【考察】*P. gulae* LPS が TLR2 ならびに TLR4 に認識されることにより, p38/ERK1/2 のシグナル伝達経路を介した炎症性反応が誘導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.

Inflammatory responses induced by *Porphyromonas gulae* LPS are mediated by TLR2 and TLR4 in human gingival epithelial cells

○Inaba H, Yoshida S, Nakano M

Dept Pediatr, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

Porphyromonas gulae, a Gram-negative black-pigmented anaerobe, has been associated with periodontal disease in companion animals, such as dogs and cats. A virulence of *P. gulae* reportedly has been attributed to different factors, including lipopolysaccharide (LPS), protease, and fimbriae. Toll-like receptors (TLR) recognize pathogen associated molecular patterns, such as lipids, lipoproteins, and LPS. In clinical samples, elevated expression and production levels of TLR2 and TLR4 in periodontal tissues of chronic periodontitis patients have been reported. Both TLR2 and TLR4 have been involved in the LPS responsiveness, while TLR2 plays a major role in Gram-positive bacterial recognition. In this study, we examined the interaction between *P. gulae* LPS and human gingival epithelial cells (Ca9-22 cells). *P. gulae* LPS increased TLR2 and TLR4 mRNA expression, and enhanced inflammatory responses, such as COX2, TNF- α , IL-6 and IL-8. Following *P. gulae* LPS stimulation, ERK1/2 and p38 were phosphorylated, and their inhibitors diminished inflammatory responses. Additionally, knockdown of TLR2 and/or TLR4 gene with siRNA prevented inflammatory responses. Moreover, p38 and ERK1/2 phosphorylation were decreased in TLR2 and/or TLR4 gene knockdown cells. These results indicate that *P. gulae* LPS activates p38 and ERK1/2 via TLR2/TLR4, leading to inflammatory responses in Ca9-22 cells.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-11 口腔細菌カプノサイトファガの OxyR 変異株作製

○菊池有一郎^{1,2}, 柴山 和子², 国分 栄仁^{1,2}, 石原 和幸^{1,2}

¹東歯大 微生物

²東歯大 口科研

【目的】口腔は、約 700 種類の常在菌が生息する環境である。その中で歯周病原細菌は、主に歯面にバイオフィームである歯垢を形成し定着する。口腔は外界と交通しているため空気に暴露されやすく、なおかつ早期定着細菌である口腔レンサ球菌の中には、過酸化水素を産生する種も存在するので、慢性感染する歯周病原細菌は、酸素に対する何かしらの防御機構を備えていることが多い。細菌の転写因子 OxyR は、菌体外の酸化ストレスに応答し、支配下タンパク質の転写を調節することでストレスを回避する。歯周病原細菌 *Capnocytophaga ochracea* は通性嫌気性菌で、OxyR を保有している。他の歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* や *Tannerella forsythia* の OxyR については詳細な解析が行われ、酸化ストレスの除去に重要な役割を果たしていることが報告されているが、*C. ochracea* については未報告である。我々は本研究にて ATCC 27872 株を親株とした OxyR の遺伝子挿入変異株の作製を試みたので報告する。

【方法】*C. ochracea* ATCC 27872 株を親株とし、OxyR 遺伝子内にエリスロマイシン耐性遺伝子カセットが挿入された変異株を作製した。親株と OxyR 変異株を用い、増殖曲線、阻止円形成法による酸化ストレス感受性試験を行った。

【結果と考察】*C. ochracea* において OxyR 変異株を作製することに成功した。このことより、OxyR は *C. ochracea* の生存において必須でないことが明らかとなった。また、嫌気培養下における野生株と OxyR 変異株の増殖速度はほぼ同程度で、顕著な差は認められなかった。次に、阻止円形成法を用いて過酸化水素に対する感受性試験を行ったところ、OxyR 変異株にて顕著な差が認められた。以上の結果より、*C. ochracea* の OxyR は、酸化ストレス回避機構に重要な役割を果たす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。

Construction of an OxyR deficient mutant of *Capnocytophaga ochracea*

○Kikuchi Y^{1,2}, Shibayama K², Kokubu E^{1,2}, Ishihara K^{1,2}

¹Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll

²Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll

Objectives: The facultative anaerobe *Capnocytophaga ochracea* has been recognized as a pathogen in chronic periodontitis. The oral cavity is chronically exposed to air; therefore, for *C. ochracea* to survive in a deep gingival pocket, it must have the capacity to respond to oxidative stress. OxyR is a redox-sensitive transcription factor that regulates the expression of genes involved in defense against oxidative stress in bacteria. A putative gene encoding an OxyR homologue has been identified in the *C. ochracea* genome. In this study, we constructed an OxyR-deficient mutant in *C. ochracea* to determine its role in defense against oxidative stress.

Methods: Insertional mutagenesis was used to create the OxyR-lacking *C. ochracea* ATCC 27872 mutant. Bacterial growth curves were generated by measuring the turbidity of the bacterial cultures. Sensitivity of the *oxyR* mutant to hydrogen peroxide (6% and 15%) was assessed by the disc diffusion assay.

Results and Conclusions: Inactivation of *oxyR* did not affect the growth of *C. ochracea*. The *oxyR* mutant was more sensitive to hydrogen peroxide. These results indicated that OxyR may play a significant role in oxidative stress responses in the bacterium.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-12 *Porphyromonas gingivalis* の H⁺依存性ジペプチドトランスポーター

○根本 優子, Sarwar Tanvir, 小早川 健, 根本 孝幸

長大 院医歯薬 口腔分子生化

【目的】 *Porphyromonas gingivalis* は糖非発酵性で、ペリプラズムに存在するジペプチド産生ペプチダーゼ群とそれに続くアミノ酸輸送系は歯肉縁下プラーク細菌叢における本菌の優位性や棲み分けを担保するものと考えられる。我々はこれまでに新規のジペプチド産生ペプチダーゼ(ジペプチジルペプチダーゼ, DPP)5, DPP11, および N 末修飾ジペプチドを遊離する新規のアシルペプチジルオリゴペプチダーゼを発見し, DPP4 および DPP7 とともに, これらのペプチダーゼ群によるジペプチド産生機構を明らかにした。本研究では, ゲノム解析から推定された3種類のアミノ酸・オリゴペプチドトランスポーターの機能解析を行った。**【方法】** *SstT*, *OPT*, および *POT* 遺伝子の欠失株および二重欠失株を作成し, それらの増殖能とアミノ酸取込能を測定した。また, これら遺伝子を発現する大腸菌株を作成した。レサズリン還元力の経時測定によりアミノ酸, ジペプチド, オリゴペプチドの取込み能と脱共役剤 CCCP の効果を検討した。**【結果と結論】** トランスポーター遺伝子欠失株の増殖は遅延し, 特に *POT* 欠失株, さらに *OPT-POT* 二重欠失株で増殖能の著明な低下が認められた。野生株ではジペプチドの取込み活性がもっとも高く, ついでアミノ酸単体とトリペプチドの取込みが認められたが, Ac-Gly-Leu, 及びヘキサオリゴペプチドの取込みは極めて低かった。*POT* 遺伝子欠失株, さらに *OPT-POT* 二重欠失株ではジペプチド取込みは顕著に低下した。*P. gingivalis* トランスポーター発現大腸菌株の解析では, GG および GL 取込みは *POT* で, Ser 取込みは *SstT* で, GGG 取込みは *OPT* によることが示された。また, CCCP はこれらトランスポーターによる取込みを阻害した。以上から, *P. gingivalis* では H⁺依存性トランスポーター *POT* によりジペプチドが細胞内に輸送されること, さらに, *SstT* と *OPT* によるアミノ酸およびトリペプチド取込みが補助的に機能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。

Proton-dependent dipeptide transporter in *Porphyromonas gingivalis*

○Ohara-Nemoto Y, Sarwar MT, Kobayakawa T, Nemoto TK

Dept Oral Mol Biol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Porphyromonas gingivalis (Pg) is a periodontopathic asaccharolytic bacterium. Periplasmic dipeptide-producing peptidases and amino acid transporters may play key roles in bacterial growth in the subgingival microbiota. We have previously reported its dipeptide-producing system mediated by novel dipeptidyl peptidase (DPP) 5, DPP11, and acylpeptidyl oligopeptidase, in addition to DPP4 and DPP7. In this report, we studied functions of amino acid and oligopeptide transporters encoded by the genes *SstT*, *OPT*, and *POT*. The growth of transporter KO Pg strains was markedly retarded, especially in the *POT* and *OPT-POT* KO strains. Pg mostly incorporated dipeptides, followed by single amino acids and tripeptides. Ac-Gly-Leu and hexoligopeptides were hardly incorporated. Incorporation of dipeptides was significantly decreased in the *POT* and *OPT-POT* KO strains. Functions of Pg *SstT*, *OPT*, and *POT* were confirmed in *Escherichia coli* strains, which heterologously expressed these transporters. Carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazone, an uncoupling agent, inhibited the three transporters. The present results revealed that dipeptides were mainly incorporated via H⁺-dependent oligopeptide transporter *POT*, and *SstT* and *OPT* additionally contribute to amino acid and tripeptide incorporation in *P. gingivalis*, respectively.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-13 宿主免疫応答による歯周病の病態形成機構の解明

○永尾 潤一, 成田 由香, 有田 (森岡) 健一, 安松香奈江, 田崎 園子, 長 環,
田中 芳彦

福歯大 機能生物 感染生物

歯周病は口腔内のデンタルプラーク中の歯周病原細菌が原因となる感染症であり, 歯を喪失する最も大きな原因となる. 近年の解析により, 歯周病の病態形成には, 歯周病原細菌に対する宿主の免疫応答が重要な役割を果たすことが明らかになってきている. 免疫応答の結果として, 歯肉の炎症や歯槽骨の吸収を伴う病態が形成され, 歯の喪失を招く. これまでの報告から歯周病の病態形成には, サイトカイン IL-17A を産生する T 細胞のサブセットである Th17 細胞が関連することが明らかになっている. しかしながら, 病態形成に関わる Th17 細胞の分化を誘導する抗原性など, 歯周病の病態形成に関わる免疫制御機構はよく分かっていない. 本研究では, 歯周病原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. 我々はこれまでに, 歯周病との関連性が高い代表的な歯周病原細菌であり, Red complex に分類される *Porphyromonas gingivalis* W83 株を用い, Th17 細胞による免疫応答を誘導する T 細胞抗原を探索してきた. *P. gingivalis* 全菌体成分から細胞分画法により各菌体成分に分画し, その中で, Th17 細胞への分化を誘導する *P. gingivalis* 細胞成分を見出している. さらに, マウス歯周病モデルにおいて, *P. gingivalis* 細胞成分に応答する Th17 細胞の動態を解析している. 本発表では, *P. gingivalis* 感染による歯周病病態形成の制御機構を Th17 細胞に着目して解析した成果を報告する.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Investigation of pathological mechanism of periodontal disease via host immune response

○Nagao J, Narita Y, Arita (Morioka) K, Yasumatsu K, Tasaki S, Cho T, Tanaka Y

Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll

Periodontal disease is a leading cause of tooth loss that is associated with oral pathogenic bacteria. The pathogenesis of periodontal disease is mediated by host immune response, especially IL-17A-producing Th17 cells. Th17 cells are key mediator to induce gingival inflammation and to promote alveolar bone loss in oral cavity. However, the regulatory mechanism to induce the Th17 immune response by periodontal pathogens remains to be elucidated. We have determined the cell component of *Porphyromonas gingivalis* to induce Th17 cell differentiation. We aim to analyze the regulatory mechanism of Th17 cells during mice model of periodontal disease.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-14 *Porphyromonas gingivalis* Hgp44 の *Treponema denticola* との共凝集における付着ドメインの解明

○吉川 幸輝¹, 菊池有一郎², 国分 栄仁², 北村友里恵¹, 齋藤 淳¹, 石原 和幸²

¹東歯大 歯周

²東歯大 微生物

Porphyromonas gingivalis が産生する RgpA には赤血球凝集/付着ドメインが存在し、このドメインの一部である Hgp44 が *Treponema denticola* との共凝集において重要な付着因子であることが報告されている。本研究は、Hgp44 の付着ドメインを明らかにすることを目的とした。*P. gingivalis* ATCC 33277 の Hgp44 (419 アミノ酸) を含むプラスミドをテンプレートとし、7 個の Hgp44 の一部を含むプラスミドを作製し、*P. gingivalis* リコンビナント Hgp44 タンパク質 (r-Hgp44) を精製した。各 r-Hgp44 の *T. denticola* ATCC 35405 への付着は、ELISA にて評価するとともに、r-Hgp44 添加による *P. gingivalis* と *T. denticola* の共凝集の抑制について評価した。さらに、走査型電子顕微鏡 (SEM) および共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) にて r-Hgp44 添加が両菌のバイオフィーム形成に及ぼす影響を評価した。*T. denticola* に対する付着では、r-Hgp44₁₋₁₉₉、r-Hgp44₁₋₃₁₆、r-Hgp44₁₋₄₁₉ がコントロールに比較して有意に高い値を示し、そのうち r-Hgp44₁₋₃₁₆ が最も高かった。この領域内では r-Hgp44₁₉₉₋₃₁₆ が最も高い付着性を示した。r-Hgp44₁₉₉₋₃₁₆ の添加は *P. gingivalis*、*T. denticola* の共凝集を有意に阻害し、SEM および CLSM による解析の結果、両菌のバイオフィーム形成を阻害した。以上より、*T. denticola* との付着に関わる Hgp44 の主たるドメインは、アミノ酸配列の 199-316 間に存在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。

Adhesion domain of *Porphyromonas gingivalis* Hgp44 to *Treponema denticola*

○Yoshikawa K¹, Kikuchi Y², Kokubu E², Kitamura Y¹, Saito A¹, Ishihara K²

¹Dept Periodontol, Tokyo Dent Coll

²Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll

Coaggregation between *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* is important in plaque biofilm formation and pathogenicity. It has been shown that the Hgp44 in adhesion/hemagglutinin domain of gingipain is involved in its coaggregation with *T. denticola*. This study aimed to elucidate a specific adhesion domain of Hgp44 to *T. denticola*. Parts of *P. gingivalis* Hgp44 DNA sequences encoding 419 amino acid residues were inserted in expression vectors, and the recombinant proteins (r-Hgp44s) were purified. ELISA was used to evaluate adhesion of r-Hgp44s to *T. denticola* ATCC 35405. Effect of r-Hgp44s on coaggregation and biofilm formation between *P. gingivalis* and *T. denticola* were assessed by coaggregation assay, SEM and CLSM, respectively. Adherence activity of *T. denticola* to r-Hgp44₁₋₁₉₉, r-Hgp44₁₋₃₁₆, r-Hgp44₁₋₄₁₉ was significantly higher than that to control and that of r-Hgp44₁₋₃₁₆ was the highest among them. In the region of r-Hgp44₁₋₃₁₆, Hgp44₁₉₉₋₃₁₆ possessed the strongest adherence activity. Compared to control, a significantly greater inhibition of coaggregation activity was observed by addition of r-Hgp44₁₉₉₋₃₁₆. Biofilms formed by *P. gingivalis* and *T. denticola* appeared to be sparse under the presence of r-Hgp44₁₉₉₋₃₁₆. It was suggested that *P. gingivalis* Hgp44 sequence responsible for adhesion to *T. denticola* resides in residues 199 to 316.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-15 抗原の舌下投与による舌下粘膜面における樹状細胞クラスターの形成誘導

○楠本 豊¹, 片岡 宏介²

¹大阪大谷大 薬 免疫

²大歯大 口腔衛生

近年、舌下投与型のワクチンの開発や、花粉症の治療に舌下免疫療法が行われ、免疫寛容の誘導のしやすさなど舌下免疫の特徴が指摘されているが、そのメカニズムは十分に判っていない。口腔免疫応答の理解には、樹状細胞 (DC) の分布を明らかにすることが有用であると考え、DC 特異的に黄色蛍光タンパク質 (yellow fluorescent protein; YFP) を発現する CD11c-YFP マウスの口腔内を観察してきた。そして、定常状態の舌下粘膜に、DC の集積 (DC クラスター) の存在を見いだした。我々は、見出した舌下面の DC クラスターが免疫応答に重要であると考え、舌下面で免疫応答を誘導した際のクラスターの形成を検討した。抗原としてジニトロフルオロベンゼン (DNFB) もしくは卵白アルブミン (OVA) を CD11c-YFP マウスの舌下面に塗布し、舌下面の DC の分布を観察した。その結果、DNFB、OVA いずれの塗布においても、多数の大きな DC クラスターが舌下面に形成された。この DC クラスター形成は一次抗原感作だけでは誘導できず、二次抗原感作により誘導されること、一次抗原感作の強さが DC クラスター形成に影響を及ぼすことが示唆された。DNFB により誘導された DC クラスターは、定常状態と同様、粘膜固有層に形成され、T 細胞を含んでいた。また、クラスターを形成している樹状細胞は、孤立樹状細胞より MHC class II ならびに CD80/86 の強発現細胞が多く、活性化した DC が集積していることが示唆された。これらの結果は、舌下粘膜局所における免疫応答のメカニズムの解明に重要な情報となると考える。共同研究者：植田都月、守屋大樹、西居亜希子、戸村道夫 (大阪大谷大学)

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

DC-cluster formation in sublingual mucosa by sublingual immunization

○Kusumoto Y¹, Kataoka K²

¹Lab Immunol, Osaka Ohtani Univ Fac Pharm

²Dept Prevent Community Dent, Osaka Dent Univ

Oral mucosa is one of the targets as artificial immune regulation site such as needle-free vaccine or sublingual immunotherapy (SLIT). However, the mechanisms of oral mucosal immune responses, especially tolerance induced by SLIT, remain unknown. Elucidation of DC distribution in oral cavity leads to understanding the immune responses in oral cavity. By our detailed observation in oral cavity of intact CD11c-YFP (yellow fluorescence protein) mice, in which DCs specifically express YFP, DC-clusters were found in the sublingual mucosa. In this study, when the antigen, 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB) or ovalbumin (OVA), was applied on the sublingual surface, the DC-cluster formation in the sublingual mucosa were observed. The sublingual application of DNFB or OVA clearly induced more and larger DC-clusters on sublingual mucosa than those in steady state. This remarkable DC-cluster formation was observed on booster immunization, but not observed on primary immunization. DC-clusters enhanced by DNFB administration were observed in lamina propria of sublingual mucosa and contained activated DC and CD5⁺ T cells. These results may contribute to understand the mechanism of immune regulation in oral cavity and further development of needle-free vaccine or SLIT. Collaborators: Mizuki Ueda, Taiki Moriya, Akiko Nishii, Michio Tomura (Osaka Ohtani University)

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-16 エナメル上皮腫の増悪に対する歯周病原細菌代謝産物の影響

○石河 太知, 下山 佑, 古玉 芳豊, 佐々木 実
岩医大 分子微生物

エナメル上皮腫は顎骨内に発生する良性腫瘍であるが、稀に悪性化し、他の組織に転移を起こす疾患である。現在までのところ、種々のサイトカインが本腫瘍の悪性化に関わること、また、*Porphyromonas gingivalis* や *Fusobacterium nucleatum* を初めとする歯周病原細菌が産生する酪酸が口腔内に発生する悪性腫瘍の進行に影響を及ぼすことが報告されている。しかしながら、エナメル上皮腫に対する酪酸の影響やサイトカインと酪酸の相互作用についてはこれまで明らかにされていない。そこで、本研究では酪酸またはサイトカインで刺激したエナメル上皮腫において発現が認められるサイトカインや接着因子を定量的リアルタイム PCR 法で、また、接着因子である laminin332 によるエナメル上皮腫細胞株の遊走を Boyden 法により検討した。同一のエナメル上皮腫から樹立し、異なる性質を持つ3つの細胞株 (HAM1, HAM2, HAM3) を酪酸で刺激した場合、EGF および TGF β の mRNA 発現が増加した。また、これら EGF および TGF β で各細胞を刺激した場合、laminin β 3 の mRNA 発現が増加した。さらに、laminin332 の影響でエナメル上皮腫の浸潤能が増強した。以上の結果より、エナメル上皮腫が酪酸で刺激された際に発現が増加する EGF および TGF β はオートクラインに laminin332 の発現を誘導し、さらにその laminin332 の影響でエナメル上皮腫の浸潤能が増強する可能性が示唆された。したがって、歯周病原細菌が産生する酪酸はエナメル上皮腫の増悪因子と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。

A periodontopathic bacterial metabolite effects on exacerbation of ameloblastoma

○Ishikawa T, Shimoyama Y, Kodama Y, Sasaki M

Div Mol Microbiol Iwate Med Univ

Ameloblastoma, a benign tumor in the jawbone, can be malignant and metastasize to other tissues. It has been reported that the butyric acid, produced by periodontopathic bacteria such as *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*, causes the progression of malignant tumors occurring in the mouth. However, the influence of butyric acid on ameloblastoma have not been clarified. Therefore, in this study, various cytokines and adhesion factor (laminin332, LM332) expressed in ameloblastoma stimulated with butyric acid or cytokines were investigated by real-time reverse transcription PCR and also the effect of LM332 on the migration of ameloblastoma was examined by migration assay. Three cell lines (HAM1, HAM2 and HAM3) established from the same ameloblastoma were used in the experiments. The results showed that LM332 was influenced the migration of all 3 cell lines and mRNA expressions of EGF and TGF β were increased in HAM2 and 3 respectively stimulated with butyric acid. In addition, the mRNA expressions of laminin β 3 increased in the respective cell lines stimulated with EGF and TGF β . These results suggested that butyric acid may be involved in the exacerbation of ameloblastoma through the expression of LM332 by EGF and TGF β produced by ameloblastoma itself.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-17 *Porphyromonas gingivalis* PGN_0296 オペロンの解析

○小野晋太郎¹, 中山 真彰², Shahriar A², 大原 直也²

¹岡大 院医歯薬 歯周病態

²岡大 院医歯薬 口腔微生物

【目的】 歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) の主病原因子であるジンジパイン (Gps) は IX 型分泌装置 (T9SS) を介して菌体表面へ輸送される。我々は, PGN_0300 遺伝子産物は外膜蛋白質で, T9SS の正常な機能に必要なことを報告した。PGN_0300 を含む PGN_0296 から PGN_0301 までの遺伝子はオペロンを形成している。このオペロンの役割を明らかにすることを目的とし, 今回は PGN_0296, PGN_0297, および PGN_0298 の各遺伝子の変異株作製と解析を試みた。

【方法】 *Pg* ATCC33277 株を親株に, 相同組み換え法によってゲノム上の各遺伝子を欠失させ, 各遺伝子欠損株の作製を試みた。そして, 作製した欠損株について, 血液寒天培地上の集落性状とプロテアーゼ活性を調べ, さらに Gps 遺伝子の発現量を測定した。

【結果と考察】 親株と PGN_0296 遺伝子欠損株 (Δ 0296 株) は血液寒天培地上で黒色集落を形成し, PGN_0297 遺伝子欠損株 (Δ 0297 株) は白色集落を形成した。 Δ 0297 株のプロテアーゼ活性は親株や Δ 0296 株と比較して有意に低下したが, Gps 遺伝子の発現量は菌株間で差がなかった。PGN_0298 遺伝子は他の欠損株と同様の方法では欠失できなかったが, PGN_0298 発現プラスミドを導入した株では, ゲノム上の PGN_0298 を欠失することができた。以上より本オペロンの PGN_0296 は非必須で欠失しても Gps の機能に影響は見られなかったが, PGN_0297 は Gps の分泌と成熟に関与し, PGN_0298 は *Pg* の必須遺伝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。

Analysis of *Porphyromonas gingivalis* PGN_0296 Operon

○Ono S¹, Nakayama M², Shahriar A², Ohara N²

¹Dept PathoPhysiol-Perio Sci, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

²Dept Oral Microbiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

The periodontopathogenic bacterium *Porphyromonas gingivalis* produces the virulence factor gingipains (Gps) and transports them to the cell surface via a type IX secretion system (T9SS). We previously reported that the PGN_0300 gene product is an outer membrane protein and is necessary for the function of T9SS. The genes from PGN_0296 to PGN_0301 form an operon. To clarify the role of this operon, we attempted to construct mutants of *P. gingivalis* ATCC 33277 in which PGN_0296, PGN_0297, or PGN_0298 gene was disrupted. And their colony characteristics on the blood agar and the protease activities were examined. The parent strain ATCC 33277 and the PGN_0296 gene deficient strain (Δ 0296) formed black pigmented colonies, whereas the PGN_0297 gene deficient strain (Δ 0297) formed white colonies. The protease activity was significantly reduced in Δ 0297 compared to those in the parent strain and Δ 0296. The PGN_0298 gene was not disrupted on the genome. However, it was deleted from the genome after introduced a PGN_0298 gene expression plasmid. Our results showed that PGN_0296 gene was not essential and deletion of it did not influence to the Gps activities. PGN_0297 involved in the secretion and maturation of Gps. And PGN_0298 was an essential gene.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-18 鎮静薬が引き起こす刺激脾細胞の免疫応答変化

○神谷 真子¹, 高山 英次², 川木 晴美², 梅村 直己², 上野 恭平², 松並 晃弘³,
安藤 恵², 住友伸一郎³, 智原 栄一⁴, 近藤 信夫²

¹朝日大 営 化学, ²朝日大 歯 口腔生化

³朝日大 歯 口腔外科, ⁴朝日大 歯 麻酔

【目的】 歯科診療において汎用されている鎮静薬は、呼吸器、循環器系に影響を与えるのみならず、免疫機能にも抑制的に作用することが知られているが、未だそのメカニズムは十分に理解されていない。本研究では、鎮静薬が免疫細胞に及ぼす影響をマウス脾細胞のTリンパ球特異的刺
激培養系をもちいて検討した。

【方法】 プロポフォール（和光純薬工業）およびミダゾラム（富士製薬工業）について検討した。マウス脾細胞は、抗マウス CD ϵ 抗体を用いて Tリンパ球特異的受容体を刺激し、鎮静・麻酔薬を含んだ培養液中で 37°C, 5% CO₂存在下にて培養した。刺激後 0~48 時間後まで、経時的に培養上清を回収し、インターフェロン (IFN)- γ , インターロイキン (IL)-2, -4, -6, -10 の濃度を酵素結合免疫吸着法 (ELISA 法) にて測定した。同時に脾細胞も回収し Isogen を用いて RNA を抽出し、定量的 PCR 法 (SYBR Premix EX Taq, TaKaRa) により各種サイトカインの転写量を解析した。

【結果と考察】 プロポフォールは少なくとも 10 μ g/ml 以下では刺激脾細胞の IFN- γ および IL-10 の産生能を抑制しなかったが、ミダゾラムは同濃度で両サイトカインの産生能を顕著に抑制した。ミダゾラムはさらに低濃度においても刺激脾細胞の IL-2, IL-4 および IL-10 の発現を転写レベルのみならずタンパク質レベルでも特異的に抑制したが、*Il-6* および *Ifn- γ* の mRNA 発現や、タンパク質産生量には、有意な変化がみられなかった。IL-10 は免疫抑制性サイトカインであることから、その発現低下は、自己免疫疾患や術後の炎症症状の増悪化、さらには患者の長期的予後にも影響する可能性も考えられた。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

The effect of sedation drugs on the immune response of T lymphocyte specific receptor-stimulated mouse splenocytes in vitro

○Kamiya M¹, Takayama E², Kawaki H², Umemura N², Ueno K², Matsunami A³, Andou M²,
Sumitomo S³, Chihara E⁴, Kondoh N²

¹Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin, ²Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent

³Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent, ⁴Dept Anesthesiol, Asahi Univ Sch Dent

It is known that sedatives, which are routinely used in the dental clinic area, not only affect the respiratory and circulatory system, but also suppress the immune function. However, the mechanism of immunosuppression has not been well understood. In this study, we examined the effect of sedation drugs on the immune response of T lymphocyte specific receptor-stimulated splenocytes in vitro. Propofol did not suppress the IFN- γ and IL-10-producing capabilities of stimulated splenocytes at least 10 μ g/ml, but midazolam significantly suppressed the production of both cytokines. At lower concentrations, midazolam suppressed the expression of *Il-2*, *Il-4* and *Il-10*-mRNAs in stimulated splenocytes as well as the production of their proteins. Midazolam did not affect the expression of *Il-6* and *Ifn- γ* -mRNA but also the production of their proteins. These results suggest that the reduction of IL-10-level may affect the progression of autoimmune disease and postoperative inflammatory symptoms, and also the long-term prognosis of patients, since IL-10 is an immunosuppressive cytokine.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-19 歯根膜細胞の細胞特性に対する咬合力の影響

○高橋 智美, 牛島 夏未, 飯塚 正

北大 院歯 学術支援

[目的] 歯根膜は間葉系幹細胞を含む様々な細胞から構成される組織であり、その機能は多岐にわたると考えられる。今回、我々は咬合力を喪失した場合の歯根膜細胞において、骨組織および脂肪組織への分化能、さらに破骨細胞誘導能について検討した。[材料と方法] 生後4週齢のWistar Ratの左側上顎臼歯を抜去し、3週後に両側下顎臼歯の歯根膜組織から細胞を分離培養し、得られた細胞をそれぞれ咬合側歯根膜細胞(Oc)および非咬合側歯根膜細胞(N-Oc)として実験に使用した。間葉系幹細胞のマーカーであるSTRO-1、CD90の発現を免疫染色によって確認し、骨芽細胞分化誘導培地および脂肪細胞分化誘導培地による培養を行い分化特性を検討した。さらに、歯根膜細胞とRAW264.7細胞との共存培養を行い、TRAP染色にて破骨細胞の誘導能を比較検討した。[結果と考察] 分離培養した細胞はOcとN-Ocとも大きさや形状に違いは無く、免疫染色においてSTRO-1およびCD90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、Ocに比べてN-Oc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も、N-Ocにおいてより多くの脂肪滴を持つ細胞が誘導された。RAW264.7細胞との共存培養では、それぞれにおいてTRAP陽性細胞がみられたが、N-Ocを用いた共存培養では、Ocに比べて大型の破骨細胞が誘導される傾向が認められた。以上のことより、歯根膜細胞は、多分化能および破骨細胞の誘導能を示し、その細胞特性には咬合力が影響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 the occlusal stimuli on cellular potentiality in periodontal ligament cells

○Takahashi T, Ushijima N, Iizuka T

Support Sect Educ Res, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Purpose: The objectives of this study was to examine multilineage differentiation capacity and ability of osteoclast induction in periodontal ligament (PDL) cells with reduced occlusal stimulus. Material & Methods: PDL cells were isolated from lower molar teeth of Wistar rats which were treated with extraction of upper molar teeth in one side 3 weeks previously. Both occlusal (Oc) and non-occlusal (N-Oc) side, PDL cells were immunostained with STRO-1 and CD90. These cells were incubated with osteogenic and adipogenic differentiation medium. PDL cells and RAW 264.7 were co-cultured, and the formation of TRAP positive multinucleated cells were evaluated. Result & Conclusion: Both Oc and N-Oc PDL cells were positive for stem cell markers STRO-1 and CD90 immunocytochemistry. In osteogenic differentiation, N-Oc represented higher expression of ALP activity and alizarin red staining than Oc. In adipogenic differentiation, more adipocytes were induced in N-Oc compared with Oc. In co-cultures, the number of osteoclasts and the size of cells were slightly increased in N-Oc. These results suggest that PDL cells have potential for multilineage differentiation and osteoclast induction, and these abilities are influenced from occlusal stimuli.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-20 抜歯窩治癒過程におけるマクロファージ浸潤についての免疫組織学的解析

○堀部 寛治, 原 弥革力, 中村 浩彰

松歯大 口腔解剖

【目的】マクロファージは貪食能を有した免疫細胞であるが、近年の報告から組織修復誘導能が注目されている。実際、骨組織常在性マクロファージの欠失が骨折治癒過程での仮骨形成を阻害することが報告されている。しかし、抜歯窩の治癒におけるマクロファージの役割は定かではない。そこで、我々はマウスを用いた抜歯実験を行い、浸潤マクロファージを中心に抜歯窩治癒の経時的解析を行った。【実験方法】6週齢の雄マウスの上顎第一臼歯を麻酔下にて抜去した。抜歯処置から1, 3, 7, 14日後に上顎骨を採取し、マイクロCT撮影、組織学的・免疫組織学的(F4/80, Galectin-3, CD86, CD206, CD169)手法により抜歯窩治癒の状態およびマクロファージの浸潤を経時的に観察した。【結果と考察】処置1日後の抜歯窩では、壊死巣が広がっているが、成熟マクロファージマーカーであるF4/80、炎症性細胞や食細胞で発現するGalectin-3の陽性細胞の局在が残存歯根膜や血管近傍部に浸潤が既に認められた。処置3日後、抜歯窩内の壊死巣はほとんど見られず、新生骨形成が認められ、抜歯窩全体にRunx2、新生骨近傍にOsterix、Osteopontinなどの骨芽細胞分化マーカーの陽性細胞がみられた。また新生骨周囲には組織修復性マクロファージであるM2マクロファージのマーカーCD206の陽性反応が多数認められた。一方で、骨折治癒に寄与すると考えられているCD169陽性マクロファージの浸潤は限局的であった。抜歯後7日、14日と石灰化骨基質で抜歯窩が満たされると共にマクロファージの数は減少した。これらの結果は、マクロファージは抜歯後早期に浸潤し、壊死組織の貪食や感染防御を行うと共に組織修復に寄与してい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。

Immunohistochemical analysis of macrophage infiltration in the process of socket healing

○Horibe K, Hara M, Nakamura H

Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ

Object: It has been clarified that macrophages are involved in various tissue repair. However, the role of macrophages in the healing of tooth extraction socket is unclear. Therefore, we analysed infiltrating macrophages in the process of socket healing. Methods: Maxillary first molar of 6-week-old male mice were extracted. The maxilla was collected at 1, 3, 7 and 14 days after extraction. The states of socket healing and macrophage infiltration were sequentially observed by micro-CT imaging and immunohistochemical method. Results: At 1 day after tooth extraction, F4/80(+) macrophages and Galectin-3(+) cells were observed in the necrotic foci of the socket. At 3 days, necrotic foci was decreased and woven bone was formed in the socket. Runx2(+) cells were found throughout the socket. Osterix and Osteopontin positive cells were found in the vicinity of woven bone. CD206(+) anti-inflammatory macrophages were localized around new bone. On the other hand, infiltration of CD169(+) macrophages, which is thought to contribute to fracture healing, were not seen. These results suggest that macrophages infiltrate in the socket and contribute to new bone formation as well as phagocytosis of the necrotic tissue.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-21 接合上皮形成過程のエナメル器における ICAM-1 および CD9 の局在変化

○藤川 芳織, 北村 素子, 福島美和子, 中村 雅典
昭大 歯

【目的】接合上皮は退縮エナメル上皮より生じるとされるが, 由来となる細胞については未だ議論の余地がある. 退縮エナメル上皮は退縮エナメル芽細胞および乳頭層より構成され, 我々はこれまでにマウス切歯の乳頭層や, 接合上皮に ICAM-1 が特異的に発現することを明らかにしてきた. 本研究では乳頭層が接合上皮の由来細胞であると仮定し, 退縮エナメル芽細胞と乳頭層との識別に ICAM-1 および CD9 を用いて, 接合上皮形成過程における発現局在の変化を検索した.

【方法】BALB/c マウス (0-21 日齢) の下顎骨を採取し, 通法に従い凍結包埋切片を作成した. 免疫蛍光染色により下顎臼歯の接合上皮形成過程における ICAM-1 および CD9 の局在を検索した.

【結果】12 日齢および萌出直前の 15 日齢では, 乳頭層全体に ICAM-1 の強い陽性反応が認められた. 一方, エナメル芽細胞では一貫して ICAM-1 の陽性反応は認められなかった. 萌出直後の 18 日齢では, 接合上皮に ICAM-1 の強い陽性反応が認められたが, エナメル質表面に隣接して残存する退縮エナメル芽細胞には陽性反応は認められなかった. その後, 21 日齢では ICAM-1 陰性の退縮エナメル芽細胞は消失し, 接合上皮全体に ICAM-1 の陽性反応が認められた. CD9 は, ICAM-1 同様に 12 日齢以降の乳頭層に強い陽性反応が認められ, エナメル芽細胞での陽性反応は認められなかった. 18 日齢では接合上皮に CD9 の強い陽性反応が認められたが, 退縮エナメル芽細胞においては弱陽性であった. 21 日齢では接合上皮および口腔歯肉上皮に CD9 の陽性反応が認められた.

【結果と考察】乳頭層における ICAM-1 と CD9 の特異的局在から, 両分子が退縮エナメル芽細胞と乳頭層とを識別する分子マーカーとして有用であることが確認された. 乳頭層における ICAM-1 および CD9 の強度な陽性反応が, 形成直後の接合上皮においても継続して認められたことから, 乳頭層の細胞が萌出後に残存し接合上皮を構成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.

Localization of ICAM-1 and CD9 in developing junctional epithelium

○Fujikawa K, Kitamura M, Fukushima M, Nakamura M
Showa Univ Sch Dent

Background: The junctional epithelium (JE) and the papillary layer of enamel organ express ICAM-1, which suggests that papillary layer might be the origin of JE. In this study, we investigated the expression of ICAM-1 and CD9 during the tooth eruption in mice to detect the origin of JE. Methods: BALB/c mice (0-21days) were used and then routinely processed for frozen sections. Immunofluorescence staining was carried out to examine the localization of ICAM-1 and CD9 in mandibular first molar tooth organs. Results: ICAM-1 positive cells were observed in papillary layer at 12 days and 15 days old, but not in ameloblasts. At 18 days old, immediately after tooth eruption, ICAM-1 positive cells were located in the junctional epithelium, but not in the reduced ameloblasts adjacent to dental enamel. At 21 days old, ICAM-1 positive cells were detected throughout the junctional epithelium and reduced ameloblasts disappeared. The expression of CD9 was identical to the expression of ICAM-1. Conclusions: ICAM-1 and CD9 showed specific localization in papillary layer, confirming that two molecules are useful marker distinguish between reduced ameloblasts and papillary layer. ICAM-1 and CD9 positive cells in papillary layer and junctional epithelium suggested that the cells of papillary layer organize junctional epithelium.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-22 マウス歯根膜細胞の LRP1 発現による抜歯窩修復への寄与

○二宮 禎¹, 中村 純基², 永島 利通³, 大橋 晶子¹, 高橋 富久¹

¹日大 歯 解剖 1

²日大 歯 矯正

³日大 歯 口外

【背景・目的】組織修復は、損傷部位への組織幹細胞の遊走から開始される。これまでに、我々は、間葉系幹細胞の Low density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP1) 発現が細胞遊走能を調節することで、骨欠損後の組織修復に関与することを示した。LRP1 は、多くのリガンドを持つエンドサイトーシス受容体であり、細胞遊走能のみならず、細胞内タンパク輸送や細胞分化などの機能が報告されている。一方、抜歯窩修復の場合、歯根膜幹細胞が関与して歯槽骨が形成されると考えられている。本研究では、マウス抜歯窩の LRP1 発現と歯根膜細胞(PDL)における LRP1 の役割を検討した。【方法・結果】抜歯窩の組織修復を検討するために、ddy マウス(4 週齢, 雄)の上顎第一大臼歯を抜歯し、抜歯窩の組織修復および LRP1 発現を経時的に観察した。抜歯後 3 日目に、抜歯窩は細胞により満たされ、LRP1 陽性細胞が点在した。5 日目には、広範囲の細胞に LRP1 が強発現し、抜歯窩辺縁部に骨組織形成が認められた。その後、抜歯窩の骨組織は増加し、骨芽細胞と骨細胞に LRP1 の発現が見られた。次に、PDL に対する LRP1 の役割を検討するため、siRNA を用いてマウス臼歯より採取した PDL の LRP1 発現をノックダウン(KD)した。PDL に対する LRP1 KD は、破骨細胞分化を誘導する RANKL 発現を上昇させたが、osteoprotegerin 発現は減少した。一方、骨芽細胞分化に関わる BMP2 と BMP4 の発現は、LRP1 KD によって減少した。これらの結果は、PDL の LRP1 発現が骨代謝調節に関与することを示唆している。【結論】以上の結果より、PDL の LRP1 発現は破骨細胞分化を抑制し、骨芽細胞分化を誘導することで、抜歯窩の組織修復に寄与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。

LRP1 contributes tissue repair in tooth socket by regulating osteoblast differentiation of periodontal ligament cells

○Ninomiya T¹, Nakamura Y², Nagashima T³, Ohashi A¹, Takahashi T¹

¹Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent

²Dept Orthod Dentofac Orthop, Nihon Univ Sch Dent

³Dept Oral Maxillofac Surg, Nihon Univ Sch Dent

The tissue repair is initiated by migration of tissue stem cells to the injured site. Previously, we showed that the expression of low density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP1) in mesenchymal stem cells is involved in tissue repair after bone defect by regulating cell migration capability. In this study, we examined the repair of tooth socket after tooth extraction and functional roles of LRP1 in periodontal ligament cells (PDL). To examine the tissue repair of tooth socket, maxillary first molar in 5 wk-old male mice were extracted. Bone formation and LRP1 expression in tooth socket were investigated by micro CT and histological analysis. Bone tissues were formed at the edge of the socket on day 5 after tooth extraction. LRP1-positive cells appeared in tissue within socket on day 3 after tooth extraction. On the other hand, LRP1 expression of PDL collected from mice molars was down-regulated by siRNA LRP1. Down-regulated LRP1 increased the mRNA expression of RANKL and decreased the mRNA expressions of osteoprotegerin, BMP2, and BMP4 in PDL. Taking these results, LRP1 expression of PDL may suppress osteoclast differentiation and induce osteoblast differentiation, thereby contributing to the tissue repair of extraction socket. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

P2-23 FIB/SEM tomography を用いた咬合喪失時（挺出時）における歯根膜の3次元構造解析

○平嶋 伸悟^{1,2}

¹久留米大 医 顕微解剖, ²久留米大 医 歯口セ

〔背景〕歯根膜は、歯周組織における恒常性維持の中心的役割をしていると考えられており、矯正力等の力学的負荷に応答し改変が起こる。歯根膜の力学的負荷に伴う変化については様々な解析がなされているものの、メゾスケールレベルで歯根膜がどのように改変されていくのかなど組織学的に未だ不明な点が多い。これらを明らかにする為には、細胞の空間的な構造変化と歯根膜線維改変の関係性を詳細に観察する事が重要である。今回我々は、力学的負荷の変化による歯根膜の構造変化を明らかにすべく、FIB/SEM tomography を用い、咬合喪失時（挺出時）における歯根膜細胞と線維束の3次元の形態変化について解析を行った。〔方法〕C57BL/6 マウスを用い、左側上顎臼歯を削合した咬合喪失群と対照群に分けて比較した。歯根膜を含む試料は術後1週目に固定・脱灰、その後 en bloc 染色し、Epon812 樹脂に包埋、FIB/SEM (Quanta 3D FEG, FEI) を用いて観察した。得られた連続切削画像から歯根膜細胞と歯根膜線維束を3次元再構築し、実験群と対照群における歯根膜細胞・線維束の3次元形態および細胞群と線維束との空間的位置について、部位別（水平線維群・斜走線維群・根尖線維群）に比較・解析した。〔結果・考察〕歯根膜細胞の線維束に対する角度、細胞の体積・表面積・伸展度・異方性について一部の領域で有意な差がみられた。実験群、対照群ともに歯根膜細胞は広範囲な細胞間ネットワークを形成していた。また、歯根膜線維束はすべての部位で実験群の方が有意に細くなる傾向があった。これらの結果により、歯根膜細胞は力学的負荷の変化に伴い、ネットワークを維持したまま、形態を変化させ線維の改変を行っていると考えられ、歯根膜における広範囲な細胞間コミュニケーションが歯根膜の改変に重要な役割をし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。

Three-dimensional ultrastructural and histomorphological analysis of the periodontal ligament with occlusal hypofunction via FIB/SEM tomography

○Hirashima S^{1,2}

¹Div Micro Develop, Dept Anat, Kurume Univ Sch Med, ²Dent Oral Med Cent, Kurume Univ Sch Med

The periodontal ligament (PDL) maintains the environment and function of the periodontium. The PDL is remodelled in association with changes in mechanical loading and essential tissue for tooth function. Three-dimensional (3D) structural data provide essential information regarding PDL function and dysfunction. However, changes in mechanical loading associated with 3D histomorphological changes in the PDL are poorly understood at the mesoscale. This study aimed to investigate quantitatively 3D ultrastructural and histomorphometric changes in cells and fibre bundles of PDL associated with occlusal hypofunction using focused ion beam/scanning electron microscope tomography (FIB/SEM tomography). In the control and experimental groups, PDL cells interacted with adjacent cells and established an extensive cellular network. Drastic changes were observed in a horizontal array of cells, with a sparse and disorganised area of collagen bundles. Furthermore, collagen bundles tended to be thinner than those in the control group. These novel findings further the current understanding of structural changes in the PDL with changes in mechanical loading on a mesoscale. FIB/SEM tomography is powerful for revealing 3D architecture in complex tissues. Our results may help elucidate architectural changes in the PDL microenvironment during changes in mechanical loading condition and regeneration, and advance a wide variety of dental treatments.

Conflict of Interest: The author declares no conflict of interest.

P2-24 IGF-Iはヘルトヴィッヒ上皮鞘の断裂とセメント質形成を促進する

○藤原 尚樹¹, 藤村 朗²

¹岩医大 歯 機能形態

²岩医大 歯 歯科医学教育

【目的】これまで我々はマウス臼歯歯胚の歯根形成初期の発達における insulin-like growth factor (IGF)-I の役割を検討してきた。IGF-I の受容体はヘルトヴィッヒ上皮鞘 (HERS) が形成されると同時に HERS 細胞に発現し、IGF-I は HERS 外層の細胞増殖を活発にすることで、歯根の伸長を促進することを報告した。本研究の目的は IGF-I が歯根形成の後期発生過程に果たす役割を明らかにすることである。【方法】生後 20 日齢 (有細胞セメント質形成が開始する直前) の Slc/ddY マウス臼歯歯胚を用い、オリジナル器官培養法を用いて、形態学的に、また形態計測を行い評価した。【結果】有細胞セメント質形成に対する至適濃度を検討した後、効果が顕著であった 100 ng/ml IGF-I を培養液に添加して実験を行った。IGF-I を添加して培養した歯根の根尖部では、有細胞セメント質の基質が沈着した範囲や厚み共に、対照群と比較して増加していた。歯根形成初期の歯胚に対する効果と異なり、この時期の歯胚の HERS では IGF-I によって細胞増殖は低下した。この時期の HERS を詳細に観察するとセメント質上に断裂した上皮細胞塊が多数観察され、断裂していない HERS でも基底膜が消失している部位が増加していた。さらに、歯根膜に見られるマラッセの残存上皮の細胞塊の数を計測したところ IGF-I 添加群では優位に増加していることが明らかとなった。【考察】これらの結果は IGF-I が歯根形成の後期発達において HERS の断裂やセメント質形成を促進するだけでなく、歯根形成期全体を通して重要な調節因子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。

Insulin-like growth factor-I stimulates the disintegration of Hertwig's epithelial root sheath and cellular cementogenesis in mouse molars in vitro

○Fujiwara N¹, Fujimura A²

¹Div Func Mor, Iwate Med Univ Sch Dent

²Dept Oral Health Enhancem, Iwate Med Univ Sch Dent

Previously, we have elucidated the role of insulin-like growth factor-I (IGF-I) during the early stages of tooth root formation in mandibular first molars of 5-day-old mice. We reported that IGF-I stimulates the mitotic activity in the outer enamel epithelium of the Hertwig's epithelial root sheath (HERS) resulting in the IGF-I elongation of the root. In the present study, we used mandibular first molars from 20-day-old mice in order to further elucidate the role of IGF-I during the later stages of tooth root formation. The control explants showed normal development of the HERS, similar to that in vivo, but the explants treated with 100 ng/ml of IGF-I showed diminished cell proliferation in inner and outer layer of the HERS. In addition, obvious disintegration of the root sheath along with the appearance of cellular cementogenesis was noted. These findings indicated that IGF-I is involved during the later stage of root formation. However, unlike during the early stages of root formation, IGF-I is necessary for the growth of the root until it reaches the appropriate length. Moreover, IGF-I contributes to formation of the epithelial cell rests of Malassez and the cementum during the later stages of tooth root formation.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-25 機械的ストレスはヒト歯周靭帯線維芽細胞において PDL 関連遺伝子を誘導する

○HOSIRILUCK NATTAKARN¹, Takada Ayuko¹, Kashio Haruna², Mizoguchi Itaru³,
Arakawa Toshiya¹

¹北医療大 歯 生化

²北医療大 歯 歯科矯正

³東北大 歯 歯科矯正

Mechanical stress induces PDL related gene in human periodontal ligament fibroblast

○Nattakarn H¹, Takada A², Kashio H², Mizoguchi I³, Arakawa T¹

¹Dept Biochem, Health Sci Univ Hokkaido

²Dept Orthod, Health Sci Univ Hokkaido

³Dept Orthod, Tohoku Univ

Purpose: Dental supporting structures known as periodontium, connective tissue that attach between cementum and alveolar bone, are necessary to maintain teeth in alveolar socket and support their function. Periodontal ligament fibroblasts (PDLF) have been considered to contribute the regeneration of PDL tissue since PDLF are able to establish themselves a new attachment fibers between cementum and bone. Mechanical stress might be one of the factor that cause some effect to maintain PDL function. In this study, we investigated the PDL related gene that response to mechanical stress. Methods: Premolar teeth were collected from healthy periodontal status patients. PDL tissue was scrapped from the middle third of dental root area and PDLF was isolated from outgrowth cells. After 2nd-3rd passages, PDLF were induced with mechanical stress by 5% stretching and 25G of gravity loading for 0hr, 8hr, 16hr, 24hr, 32hr and 48hr under condition of 37C with 5% CO₂. mRNA was isolated using Trizol reagent and converted to cDNA by Reverse Transcription. PDL related gene expressions were identify using Quantitative Real-time PCR. Results: Osteopontin expression was up-regulated in both stretching and gravity loading, at 8hr -32hr. While Asporin and Periostin expression were down-regulated. Osteonectin expression was not change after mechanical stress induction. Conclusion: Mechanical stress might me one of the factors that regulate PDL related gene expression, in order to maintain PDL tissue function.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-26 ヒトセメント質における硬度の変異と組成変化の関連

○三島 弘幸¹, 山口 大², 千葉 敏江³

¹鶴大 歯 歯科理工

²吉本矯正歯科

³鶴大 歯 口腔解剖

ヒト上顎小白歯のセメント質では個体変異により硬度に違いがあり, さらに硬度差がCa/P比に関連があることが報告されている (Yamaguchi et al., 2016; Yao-Umezawa et al., 2017). 本研究の目的はセメント質の硬度差とセメント質の無機質量との関連性をより詳細に解析することである. 矯正治療で便宜抜去された上顎小白歯を用いた. 上顎小白歯 50 本の試料において, ビッカース硬さで硬度の異なる 3 グループ (硬度が高いグループ, 中間のグループ, 硬度が低いグループ) を分類した (Yamaguchi et al., 2016). 本研究では硬さの異なるグループの代表的 3 例を用いて解析した. 本研究は日本大学松戸歯学部倫理委員会の審査を受け, 承認されたものである (EC-15-001). SEM, SEM-EDS 分析及び高分解能 X 線 CT 装置 (μ CT) を用いて, 歯頸部, 歯根中央部, 根尖部に区分して解析した. SEM-EDS 分析では, 3 グループともセメント質中に主要元素として Ca, P が検出され, また微量元素として, Na, Mg, Al, Si が検出された. セメント質歯根中央部や根尖において, 硬度が高いグループは硬度の低いグループ群より Ca 含有量が多かった. Mg の元素マッピング像において, 硬度が低いグループでは根尖部表層で Mg が多く密に分布していた. μ CT では組織無機質密度 (Tissue mineral density: TMD) を解析した結果, 硬度が高いグループでは TMD 値が他のグループより高かった. また硬度が低いグループでは TMD 値の低い領域が広範囲であった. ビッカース硬さで硬度の異なる要因として, セメント質の無機質中に含有する Ca や Mg の密度差が関連していると考察された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Relationship between hardness variations and compositional changes in human premolars cementum

○Mishima H¹, Yamaguchi M², Chiba T³

¹Dept Dent Eng, Tsurumi Univ Sch Dent Med

²Yoshimoto Orthod Clin

³Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med

In the cementum of human maxillary premolars, there is a difference in hardness due to individual variation, and it is also reported that the hardness difference is related to the Ca /P ratio (Yamaguchi et al., 2016; Yao-Umezawa et al., 2017). The purpose of this study is to analyze the relationship between the hardness variations and the mineral contents in the premolars cementum. Yamaguchi et al., (2016) classified the 50 extracted teeth into the soft, the moderate, and the hard groups according to the Vickers hardness. In this study, three representative specimens in the different groups of the hardness of premolars cementum were analyzed. The specimens were observed and analyzed using an SEM, an SEM-EDS, and a μ CT. The hard groups had more Ca content than the low groups by SEM-EDS. In the element mapping image, Mg was densely distributed in the surface layer of the root apex in the low groups. By the μ CT analysis, the hard groups had higher TMD values than the other groups. It was considered that the difference in density of Ca and Mg contained in cementum was related to the variation of Vickers hardness.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-27 歯のエナメル質様硬組織の硬骨魚類段階における分化

○笹川 一郎¹, 岡 俊哉², 三上 正人³, 横須賀宏之⁴, 石山巳喜夫⁴

¹日歯大 新潟歯 先端研, ²日歯大 新潟歯 生物

³日歯大 新潟歯 微生物, ⁴日歯大 新潟歯 解剖 2

【目的・方法】歯の表層高石灰化組織の由来は以前から注目されてきた。軟骨魚類サメ・エイ類ではエナメロイドである[1]。硬骨魚類基幹条鰭類はガノイン (ganoine) とアクロディン(acroдин, キャップエナメロイド)の組合せを持つ。一方, 両生類に連なる肉鰭類ではエナメル質であり, エナメロイドは無い[2]。鱗の形態進化から, ガノインとエナメル質の分化は条鰭類と肉鰭類の分化の時期まで遡ると考えられる。ゲノム解析の結果では, エナメル質がある肉鰭類シーラカンスは AMEL 遺伝子を持つが[3], 一方, 基幹条鰭類ガーは AMEL 遺伝子を持たない[4, 5, 6]。ガノインの主要基質タンパクは AMEL と似ているが異なる SCPP である。したがって, 組織構造は似るがガノインはエナメル質とは区別すべきである。しかし, アクロディン形成でのこの SCPP の関与には議論の余地があった。今回, 基幹条鰭類魚類のアクロディン形成期歯胚を材料に, 哺乳類 AMEL の抗体を用い, 免疫組織化学を行い光顕と透過電顕で観察した。【結果・考察】アクロディン形成においてもこの SCPP の重要な役割が示唆される結果が得られた[7]。これより, この条鰭類の SCPP は, ガノインのみならずアクロディン形成にも密接にかかわると考えられ, 系統と組織の分化と基質タンパクの違いが調和する。AMEL を主としたエナメル質のない条鰭類では, ガノインと共にアクロディン形成が起こった。[1] Cunny et al. (2017) Evolution of Dental Tissues and Paleobiology in Selachians, ISTE Press. [2] Schultze (2016) C. R. Palevol 15, 83. [3] Kawasaki (2014) J Exp Zool (Mol Dev Evol) 322B, 390. [4] Qu et al. (2015) Nature 526, 108. [5] Braasch et al. (2016) Nature Genetics 48, 427 [6] Kawasaki et al. (2017) J Exp Zool (Mol Dev Evol) 328B, 645. [7] Sasagawa et al. (2019) Connect Tissue Res 60, 291.

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Diversity of dental hard tissues during the evolution of bony fish

○Sasagawa I¹, Oka S², Mikami M³, Yokosuka H⁴, Ishiyama M⁴

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

There are a bewildering variety of dental hard tissues found in the teeth of fish. Enameloid, a well-mineralized hard tissue situated on the outermost portion of teeth, can be separated in three subgroups, elasmobranch enameloid, osteichthyan enameloid (acroдин), and enameloid in larval urodeles, according to morphological and developmental differences. Recent paleontological data suggested that osteichthyan enameloid was characteristic of the actinopterygian lineage, and was not present in sarcopterygian lineages. On the other hand, enamel has been a synapomorphy of osteichthyans. According to recent genetic analyses, Latimeria, extant sarcopterygians, possesses AMEL. However, gar, which are basic actinopterygians, lack AMEL, but instead they possess AMBN, ENAM, and many other SCPP genes. Enamel in osteichthyans can be divided into two forms: true enamel in sarcopterygians and ganoine in actinopterygians. However, the localization of SCPP proteins in enameloid (acroдин) is still unclear. In this study, TEM-based immunohistochemistry showed that positive immunoreactivity for antibodies was detected in the enameloid matrix during the mineralization stage. This finding suggested that the presence of SCPP proteins in enameloid was closely related to the evolution of the enameloid-ganoine complex in the actinopterygian lineage. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

P2-28 ヒト歯髄においてシュワン細胞はマクロファージを M2 型へ転換する

○吉羽 永子¹, 大倉 直人¹, 前川 知樹², 泉 健次³, 細矢 明宏⁶, 中村 浩彰⁷,
前田 健康⁴, 野村由一郎¹, 吉羽 邦彦⁵

¹新潟大 院医歯 う蝕, ²新潟大 院医歯 高口機教研, ³新潟大 院医歯 生体組織再生

⁴新潟大 院医歯 歯教研開発, ⁵新潟大 院医歯 口腔保健, ⁶北医療大 歯 組織

⁷松歯大 口腔解剖 II

【目的】マクロファージはその働きによって炎症型(M1型)と抗炎症型(M2型)に大別され, M1型は感染防御に, M2型は組織修復に関わるとされる. 本研究ではヒト歯髄の創傷治癒過程におけるマクロファージの動態を明らかにし, M2型への分化機構について検討を行った. 【方法】本研究は新潟大学倫理審査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. 臨床手技に従い浸潤麻酔後 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製した. 免疫抗体法にて CD68(汎マクロファージマーカー), CD163(M2型マクロファージマーカー), NGFR(シュワン細胞マーカー), BDNF(brain derived neurotrophic factor)を染色した. In vitro では, ヒト歯髄から MACS によりシュワン細胞を取り出し, THP-1由来マクロファージとの共培養を行った. 【結果】健全歯髄では, CD68陽性細胞は歯髄に散在するのに対し, M2型はシュワン細胞と共在し BDNF を発現していた. 直接覆髄後では, CD68陽性細胞は変性層下に集積していたが, M2型は常にシュワン細胞と共に観察された. これら in vivo の結果から, シュワン細胞はマクロファージを M2型に転換するという仮説を立て, in vitro での共培養を行った. 単離培養したシュワン細胞は小型紡錘形の核と細長い突起を有していた. THP-1マクロファージがシュワン細胞と接触すると, M2型の特徴である細胞の伸長が認められさらに CD163 を発現することが明らかとなった. 【結論】ヒト歯髄において M2型マクロファージはシュワン細胞により分化が誘導され神経系の保護に機能していると考えられた. (会員外共同研究者:新潟大う蝕枝並直樹, 遠間愛子) 【利益相反】利益相反状態にはありません.

Schwann cells modulate the macrophage phenotype toward M2 in human dental pulp

○Yoshida N¹, Ohkura N¹, Maekawa T², Izumi K³, Hosoya A⁶, Nakamura H⁷, Maeda T⁴,
Noiri Y¹, Yoshida K⁵

¹Div Cariol Oper Dent Endod, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

²Res Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

³Div Biomimetics, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

⁴Div Dent Educ Res Dev, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

⁵Div Oral Sci Health Prom, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

⁶Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

⁷Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ

Objectives: Macrophages are conceptualized as two opposing types: classical (proinflammatory, M1) and alternative (anti-inflammatory, prohealing, M2). The present study aimed to examine the localization and distributional alterations of macrophages during wound healing after direct pulp capping, and to explore a potential role of Schwann cells in modulating the macrophage phenotype. Methods: This study has been approved by the Niigata University Ethics Committee. Teeth capped with MTA were extracted as part of orthodontic treatment, and processed for immunostaining with various markers. Coculture experiments were performed using human dental pulp-derived Schwann cells and human monocyte cell line THP-1. Results: In healthy dental pulp, macrophages stained for CD68 were scattered in the dental pulp, whereas, M2 cells stained for CD163 were closely associated with Schwann cells. During the reparative process, CD68 expressing macrophages occupied the wound tissue, whereas, M2 phenotype was detected with Schwann cells all through the healing process. In cocultures, THP-1 macrophages in close contact with Schwann cells underwent elongation and revealed to be M2 phenotype. Conclusions: Schwann cells play a pivotal role in modulating the macrophage phenotype toward M2 polarization in human dental pulp. (Collaborators: Edanami N, Tohma A) **Conflict of Interest:** The authors declare no competing interests.

P2-29 歯牙形成過程の象牙芽細胞における小胞分泌関連タンパク質 CD63 の局在変化

○福島美和子, 藤川 芳織, 井上 知, 中村 雅典

昭大 歯 口腔解剖

【目的】歯牙の形成過程では、初期石灰化における象牙芽細胞とエナメル芽細胞の上皮間葉相互作用が重要といわれ、その過程におけるエクソソームの役割は明らかではない。我々は細胞間相互作用および象牙質石灰化における象牙芽細胞のエクソソームについて検討するため、エクソソーム関連タンパク質 CD63 に着目し、歯牙形成過程における局在変化を検討した。【材料及び方法】実験動物には6週齢の雌性 ICR マウスを用いた。mRNA 発現は歯髓組織から Total RNA を抽出し、RT-PCR により解析した。タンパク質発現は歯髓からタンパク質を抽出し、Western blotting により解析した。蛍光免疫染色は、マウスを4%パラホルムアルデヒドで浸漬固定後、10% EDTA で脱灰した下顎骨から凍結切片を作製した。凍結切片に対し抗 CD63 抗体でラベル後、切歯および臼歯に対する共焦点レーザー顕微鏡観察を行った。【結果および考察】象牙芽細胞を含む歯髓組織から抽出した RNA を用いて RT-PCR 解析を行った結果、エクソソーム関連タンパク質である CD9, CD63, CD81, Alix, Tsg101 のバンドがみられた。また、Western blotting にて、歯髓に CD63 を示す 40 kDa 近傍のバンドが確認された。蛍光免疫染色の結果、抗 CD63 抗体はマウス切歯の成熟象牙芽細胞と歯髓細胞に陽性であり、切歯形成端の前象牙芽細胞には陰性だった。また成熟象牙芽細胞内では、アピカル側の細胞質とトームス線維内にドット状の陽性像を示した。一方、臼歯の発生過程において、抗 CD63 抗体は象牙芽細胞および前象牙芽細胞のアピカル側にドット状の陽性像を示した。以上のことから、CD63 は象牙質の形成過程に重要である可能性が考えられた。また、象牙芽細胞の分化は切歯と臼歯で相違の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。

Expression and localization of vesicle-releasing marker proteins in developmental stages of mouse odontoblast cells

○Matsuki-Fukushima M, Fujikawa K, Inoue T, Nakamura M

Dept Oral Anat, Showa Univ Sch Dent

[Purpose] To reveal the role of exosome in odontoblast during both tooth development and dentin formation, we focused on an exosome marker protein, CD63, and determined protein expression and localization in mouse tooth development. [Materials and Methods] mRNA expression of vesicle-releasing proteins in mice dental pulp was analyzed with RT-PCR. Protein expression of CD63 was determined with Western blotting. For immunohistochemical detection of CD63, mouse mandibles (E18-6W post natal) was fixed with 4% paraformaldehyde and decalcified with 10% EDTA. Cryosection of mandibular tissue was labeled with anti-CD63 antibody and observed with laser scanning microscopy. [Results and Conclusion] In RT-PCR, gene transcripts of exosome-related proteins was positive in dental pulp cells. In Western blotting, anti-CD63 antibody recognized the band approximately 40 kDa which is equal to predicted molecular weight of glycosylated CD63. In adult incisor, anti-CD63 antibody was positive in mature odontoblast and dental pulp cells but not in pre-odontoblast layer. Furthermore, anti-CD63 antibody was positive as dot-like pattern in apical area of odontoblast cytosol and Tomes's fiber. On the other hand, during morphogenesis of molar tooth, anti-CD63 antibody was positive both mature- and pre-odontoblast cells. These results suggest that CD63 is important to mouse tooth morphogenesis.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-30 *Lophius litulon* におけるオキシタラン線維の組織学的研究

○湯口 眞紀^{1,2}, 山崎 洋介^{1,2}, 金沢 紘史¹, 磯川桂太郎^{1,2}

¹日大 歯 解剖 II

²日大 歯 総歯研 機能形態

ヒトの歯根膜に存在するオキシタラン線維は、弾性系線維に属する細胞外線維である。ヒト以外でも種々の哺乳類や爬虫類であるワニの歯根膜でその存在が報告されている。しかしながら、魚類ではこれまでに、Soule (1969) によって、トリガーフィッシュの歯周組織におけるオキシタラン線維の存在が報告されたのみで、詳細な検索はない。本研究では、比較組織学的な観点からオキシタラン線維の機能や出自を探ることを目的とし、Oxone による酸化処理を併用したレゾルシン・フクシン (OxRF) 染色を用いて、*Lophius* 顎歯の蝶番結合歯および歯周組織におけるオキシタラン線維の分布について組織学的な観察を行った。OxRF 染色の結果、オキシタラン線維は、蝶番結合歯の唇側基底部の象牙質内およびその下方の歯足骨内に観察された。象牙質内の同線維の走行は歯軸と平行であり、歯足骨内では、歯軸と平行な線維に加えて歯足骨上面と平行な線維も観察された。歯足骨形成予定域のオキシタラン線維の走行に規則性はなかったが、これらの線維に沿って幼若な線維性骨が出現して歯足骨形成が進行すると思われる、線維性骨表面に沿う線維や、線維性骨内部に埋め込まれている線維も観察された。これらの知見は、*Lophius* の蝶番結合歯と関連するオキシタラン線維が、既報の種に共通する歯根膜中心の分布でなく、顎歯の唇側象牙質基部や歯足骨に多く分布し、これら硬組織の形成開始や増生パターンと密接に関わっている可能性を示唆している。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Histological study of oxytalan fibers in the lower jaw of *Lophius litulon*

○Yuguchi M^{1,2}, Yamazaki Y^{1,2}, Kanazawa H¹, Isokawa K^{1,2}

¹Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent

²Div Funct Morphol, Dent Res Cent, Nihon Univ Sch Dent

Oxytalan fibers are the subset of elastic system fibers in periodontal ligaments of human, other mammals, etc. In 1969, Soule reported the presence of periodontal oxytalan fibers in trigger-fish, but fish oxytalan fibers have not been studied to any great detail. To elucidate the function and lineage of vertebrate periodontal oxytalan fibers, this study aimed to reveal the distribution of the fibers in the hinged tooth of angler fish (*Lophius litulon*) by oxidation and resorcin fuchsin (OxRF) staining. OxRF-positive fibers were observed in the labial base of dentin and in the pedestal bone (pedicel); the fibers were parallel to the tooth axis in dentin and pedicel, but some in pedicel were parallel to its surface juxtaposed to tooth base. Positive fibers in the presumptive area for pedicel did not show any specific orientation. However, newly formed bone appeared to develop along the preexisting oxytalan fibers, and therefore many fibers were embedded in or attached to the developing fibrous bone. These findings indicate that oxytalan fibers shown in this study are mostly found in calcified tissues (dentin and pedicel) and suggested to be involved in the onset and growth patterning of fibrous bone, which results in the functional pedicel.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-31 糖化ストレスによって象牙質内に蓄積する糖化最終産物 (AGEs) の分布 検出方法の検討

○清水 真人, 三浦 治郎, 杉山 敬多, 高島 葵
阪大 院歯 総診

還元糖とタンパク質は親和力が強く生理的条件下で不可逆的に糖化最終産物 (Advanced Glycation End products, 以下 AGEs) を生成する. 加齢や糖尿病による高血糖ストレスによって AGEs が各臓器に蓄積することで動脈硬化や骨粗鬆症などの疾病の一因となっている. 象牙質は萌出完了後から代謝がほとんどないことから, AGEs の経年的増加はほとんどないと考えられてきたが, 我々は象牙質中の AGEs の量を蛍光寿命観察や免疫組織染色等種々の分析法によって解析した結果, AGEs の量が被験者の年齢や, う蝕時のエナメル質の喪失による歯冠側からの糖化ストレスに暴露されて後天的に増加していることを見出した. 象牙質中の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. 糖化経路の詳細な解析には, 糖化ストレスと象牙質中の AGEs 分布の量的, 時間的な相関を解析しなければならないが, ヒトの抜去歯を用いた研究手法では倫理的に不可能である. 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分子として免疫化学的手法, 高速液体クロマトグラフィー (以下 HPLC) や質量顕微鏡による分析化学的手法を用いて解析した. 免疫染色により 2 型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状態を確認した. HPLC 解析においては分取ピークを ESI-MS によって解析し, ペントシジンであることを同定している. ラットの尾髄, 血液といった他の組織における AGEs の蓄積とも相関がみられた. これらの結果より, 通常 of 象牙質の糖化は歯髄中の血液より供給される糖のよることが示唆された. 質量顕微鏡解析においてはラット象牙質からペントシジンの検出はできているが, AGEs 分布状態を反映した検出像は得られていない. 定量的なイオン化条件を検討中である

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Investigation of distribution detection methods of advanced glycation end products (AGEs) accumulated in the dentine by glycation stress

○Shimizu M, Miura J, Sugiyama K, Takashima A

Div Interdisci Dent Osaka Univ Grad Sch Dent

Reducing sugar binds to proteins under biological conditions, it reacts irreversibly to form advanced glycation end products (AGEs). It is considered that accumulation of AGEs in various organs by aging and glycation stress causes disease such as arteriosclerosis and osteoporosis. As dentin collagen does not undergo extensive metabolization 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 measurements of 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 diabetes patients. 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 and tail tendon.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-32 Bisphosphonate はミトコンドリア機能を障害することにより骨芽細胞の マイトファジーを促進させる

○田島 雅道

明海大 歯 病態診断治療・薬理

【目的】 Bisphosphonate (BP) 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。骨芽細胞内に取り込まれた BP がどのような機序で細胞死へと向かわせるのか、その機序を明らかにする目的で、ミトコンドリア機能に焦点をあてて解析を行った。【方法】 骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 を用い、WST-8 法で生細胞測定を行った。蛍光標識化 BP を用いて細胞内取り込みを評価し、ミトコンドリア膜電位変化は JC-1 で、酸化ストレスによる細胞内活性酸素 (ROS) 生成応答は CM-H₂-DCFDA を用いて評価した。オートファジー検出は DAP (L) Green を、マイトファジーは Mtpagy Dye を用いて評価した。細胞内 Ca²⁺ は Fluo 4-AM で、ミトコンドリア Fe²⁺ は Mito-FerroGreen を用いて評価した。【結果】 Zoledronate (ZD) は濃度依的に細胞を障害し、細胞内に取り込まれた蛍光標識化 BP はリソソームに集積した。MC3T3-E1 細胞は正常状態で常にオートファジーを起こしている、リソソーム阻害薬 bafilomycin A1 によってオートファジーの流れ (flux) が阻害されると細胞死を起こした。ZD にも軽度ながらこの flux 阻害効果が認められ、bafilomycin A1 との併用ではさらに顕著な細胞死を誘導した。ZD は細胞内の Ca²⁺ 低下作用とミトコンドリア Fe²⁺ の減少を引き起こし、ROS 生成応答を低下させた。ZD はマイトファジーを促進させていた。【考察】 これらの結果から、BPs は骨芽細胞内の Ca²⁺ と Fe²⁺ をキレート形成して、ミトコンドリア機能を障害させてマイトファジーを誘導する一方で、リソソームに集積してオートファジー flux を阻害することで細胞死を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。

Bisphosphonate promotes the mitophagy of osteoblastic cells by damaging the mitochondrial function

○Tajima M

Div Pharmacol, Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent

Extracting teeth of patients treated with bisphosphonate (BP) occasionally induces the necrosis of jaw, but the cause of disease is still unclear. I investigated the mechanism of BP-induced cytotoxicity in osteoblast, focusing on mitochondria. MC3T3-E1 cells were used as osteoblastic cells. The uptake of BP into cells was observed by fluorescent BP. The intracellular reactive oxygen species (ROS) were evaluated by CM-H₂-DCFDA. Detections of autophagy and mitophagy were used DAP (L) Green and mtpagy dye, respectively. The intracellular Ca²⁺ and mitochondrial Fe²⁺ were measured by Fluo 4-AM and Mito-FerroGreen, respectively. Zoledronate (ZD) impaired cells dose-dependently. The intracellular BP was located in lysosomes. MC3T3-E1 cells always occurred autophagy flux, and were induced cell death when bafilomycin A1 (BM), a lysosome inhibitor suppressed autophagy flux. ZD slightly occurred the suppression of autophagy flux, however the combination of BM and ZD strongly enhanced cell death. ZD decreased intracellular Ca²⁺ and mitochondrial Fe²⁺, and suppressed the response of intracellular ROS generation by oxidative stress. ZD promoted mitophagy in cells. These results suggest that BP may form the chelate with Ca²⁺ and Fe²⁺, and damage the mitochondrial function, resulting in the promotion of mitophagy. Furthermore, BP may suppress autophagy flux by accumulating into lysosomes, and induce cell death.

Conflict of Interest: The author declares no conflict of interest.

P2-33 セツキシマブのヒト口腔扁平上皮がん細胞及びケラチノサイトに対する選択毒性の評価

○飯島 洋介¹, 坂東健二郎², 友村 明人², 山田 美喜¹, 日野 峻輔¹, 金子 貴広¹,
堀江 憲夫¹, 坂上 宏³

¹埼玉大 総医セ 歯科口腔外科, ²明海大 生化, ³明海大 歯科医学総合研

【目的】抗がん剤には、細胞の分裂機構に作用し、細胞増殖を抑える古典的な細胞傷害性抗がん剤と、がん細胞の増殖や転移の際に働く、がん細胞特有の分子を標的とした分子標的治療薬があり、後者は、副作用が比較的少ないことが知られている。今回我々は、分子標的治療薬であるセツキシマブのヒト口腔扁平上皮癌細胞(OSCC)、口腔正常細胞に対する選択毒性をMTT法を用いて検討した。【方法】ヒトOSCC(Ca9-22, HSC-2, HSC-3, HSC-4)及びヒト間葉系口腔正常細胞(HGF, HPLF, HPC)は、10%非働化FBS/DMEM培地で培養した。ヒト上皮系口腔正常細胞(HGEP, HOK)は増殖因子を含む特殊培地で培養した。細胞を各96穴マイクロウェルプレートに 2×10^3 細胞播種し、48時間後、培地を種々の濃度の試験化合物を含有する新鮮培地と交換した。細胞をさらに48時間インキュベートし、相対的生細胞数をMTT法により決定した。腫瘍選択毒性は、正常細胞に対する CC_{50} 値の平均値を、OSCCに対する CC_{50} 値の平均値で割り求めた。細胞周期解析及びアポトーシス細胞の出現率の算定は、セルソーターにより行った。【結果・考察】古典的抗がん剤11種は、全てcytotoxicな増殖抑制を示し、TS値は高い値を示した。これに対し、分子標的治療薬8種は、cytostaticな増殖抑制を示し、TS値は弱い値を示した。セツキシマブは、間葉系正常細胞に対しては $2500\mu\text{g/ml}$ 以下では毒性を示さなかったが、OSCC($CC_{50}=1134\text{--}2210\mu\text{g/ml}$)及びケラチノサイト(HOK)($CC_{50}=1236\mu\text{g/ml}$)に対しては濃度依存的な細胞増殖抑制効果を示した。セツキシマブは、細胞傷害性の抗がん剤と比較して副作用が少ないと考えられている分子標的治療薬であるが、ケラチノサイトへの毒性があることが明らかになった。現在、古典的抗がん剤と分子標的治療薬の相乗効果、アポトーシス誘導の可能性について検討中である。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Evaluation of selective toxicity of cetuximab against human oral squamous cell carcinoma cell lines and keratinocytes

○Iijima Y¹, Bandow K², Tomomura A², Yamada M¹, Hino S¹, Kaneko T¹, Horie N¹,
Sakagami H³

¹Dept Oral Maxillofac Surg, SMC, Saitama Med Univ, ²Dept Oral Biol Tissue Engin, Meikai Univ Sch Dent, ³Mekai Univ Res Inst Odontol (M-RIO)

[Purpose] There are two types of anticancer agents, classical anticancer agents and molecular targeted drugs. The latter are known to show lower side effects. We investigated here the selectivity of cetuximab, a popular molecular target drug, against human oral squamous cell carcinoma cell lines (OSCC) vs normal oral cells. [Methods] OSCC and normal mesenchymal cells were cultured in DMEM supplemented with 10% heat-inactivated FBS. Normal epithelial cells (HOK, HGEP) were cultured in growth factor-enriched media. Cells were treated for 48 h with samples, and viable cell number was determined by MTT method. Tumor-specificity (TS) was calculated by dividing the mean CC_{50} value against normal cells by that against cancer cells. Appearance of apoptotic cells were quantified by a cell sorter. [Results and Discussion] All 11 classic anticancer drugs showed cytotoxic growth inhibition, with very high TS values. On the other hand, eight molecular target drugs showed cytostatic growth inhibition, with much lower TS value. Cetuximab (up to $2500\mu\text{g/ml}$) showed no detectable toxicity against mesenchymal normal cells, while it showed concentration-dependent growth inhibition against OSCC and HOK. The present study demonstrated keratinocyte toxicity of Cetuximab. Combination study with classical anticancer agents, and possibility of apoptosis induction are underway.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-34 マウスの実験的口内炎に対するエピシル™の効果

○山田 美喜¹, 飯島 洋介¹, 日野 峻輔¹, 金子 貴広¹, 坂上 宏², 堀江 憲夫¹

¹埼玉大 総医セ 歯科口腔外科

²明海大 歯科医学総合研

【目的】 がん治療に伴う口内炎は口腔内有害事象の一つである。口内炎は悪化し疼痛が高度になると、患者のQOLは低下し、場合によっては治療の中断を招くこともある。口内炎の根本的な予防法はなく、二次的感染の予防や、疼痛を緩和させることが重要である。口内炎に対する粘膜被覆材として開発された、エピシル™は臨床応用が開始されたが、いまだにその効果に対する動物実験の報告は少ない。今回われわれは、マウスに舌粘膜機械的切除による実験的口内炎を作製し、同部にエピシルを貼布し、その後の経過を観察したのでその概要を報告する。【方法】6週齢(20g)のマウスを混合ガス(1-2%イソフルラン・0.5%笑気・0.25%酸素)による吸入麻酔下に舌側縁部の長径3mm、短径1mmの粘膜切開創をメスおよび撮子にて作製し、実験的口内炎(口内炎マウス)とした。実験的口内炎作製後直ちにエピシル™を貼布した群をエピシル群とし、エピシル™を貼布しなかった群を非エピシル群とした。また実験的口内炎を作製しなかった群を対照群とした。3群とも術前より毎日体重測定を実施し、体重の変化を観察した。【結果・考察】実験的口内炎作製1日目に、エピシル群、非エピシル群は対照群に比較して有意な体重の減少を認めた。またエピシル群は非エピシル群に比較し、有意な体重減少の防止を認めた。マウスの舌粘膜機械的切除が実験的口内炎として有用である可能性とエピシル™がマウスの実験的口内炎による疼痛緩和に効果的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。

Effect of Episil for experimental stomatitis in mouse

○Yamada M¹, Iijima Y¹, Hino S¹, Kaneko T¹, Sakagami H², Horie N¹

¹Dept Oral Maxillofac Surg, SMC, Saitama Med Univ

²Mekai Univ Res Inst Odontol (M-RIO)

[Purpose] Stomatitis associated with cancer treatment is one of the oral adverse events. If stomatitis gets worse, we can not but stop the anticancer drug treatment. There is no fundamental prevention of stomatitis, and it is important to prevent secondary infections and relieve pain. Episil™, which was developed as a mucous membrane covering material for stomatitis, has started clinical application, but there are still few reports of animal experiments for its effect. In this study, we made experimental stomatitis in mice by mechanical wound of tongue mucosa, applied episil™ on the same site, and observed the progress after that. [Method] A 6-week-old (20 g) mouse was incised under inhalation anesthesia and a mucosal incision was made 3 mm long and 1 mm short on the tongue side edge, and experimental stomatitis (stomatitis mouse) was prepared. [Results and Discussion] On day 1 of experimental stomatitis preparation, the episil group and non-episil group showed significant weight loss compared with the control group. The episil group also showed significant prevention of weight loss compared to the non-episil group.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-35 集団におけるヒト唾液高プロリンタンパク質 P-B とそのバリエント Q504X8 の発現頻度の解析

○斎藤 英一¹, 今井あかね², 加藤 哲男³

¹新潟工大 院工, ²日歯大新潟短大 歯科衛生, ³東歯大 化学

ヒト唾液や涙液に含まれる高プロリンタンパク質 P-B は 57 残基の抗歯周病原細菌タンパク質 (分子量 (Mr) = 5.8 K, pI (計算値) = 10.27) であり, 分子内に抗うつ・鎮痛ペプチド (QRGPR) ならびに抗がんペプチド (RGPYPPGGLAPP) を隠し持っている. 最近, 我々は「通常, P-B 遺伝子 (PBII) の 3 つの exon が連結されて P-B が生産されるが, 4 つの exon が連結されてバリエントタンパク質 Q504X8 (84 残基, Mr=9.6 K, pI=8.95) が生産されることも有りうるのではないか」とする NCBI gene data base の仮説を証明した. 本研究では, 個人唾液に含まれる Q504X8 を特定し, 集団における Q504X8 と P-B の発現頻度の解析を試みたのでその成果を報告する. 本学術倫理委員会の承認のもとで, 健常者 (学生ボランティア 29 名, 年齢 21-22 歳) から顎舌下腺唾液を氷冷下で採取し, 10 倍濃縮唾液試料を 15% SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により分離して EzStain Silver で染色した. 顎舌下腺唾液から精製された P-B の易動度に基づき, P-B の電気泳動バンドを決定した. 現時点では, Q504X8 タンパク質が大量に精製されていないため, Mr = 9.6 K の位置に泳動したタンパク質 (X) を Q504X8 (P-B のバリエント) と仮定して各々のタンパク質の発現頻度を解析した. P-B と X がそれぞれ 5.8 K と 9.6 K の位置に泳動されることを再確認した後, 29 名の唾液検体を調査した. その結果, 3 種の表現型, P-B/P-B, X/X ならびに P-B/X がそれぞれ 13:9:7 の割合で観察された. 以上のことから P-B-mRNA の前駆体から 2 つの GU-AG intron が切除されて P-B が翻訳される頻度ならびに P-B-mRNA の前駆体から 2 つの GU-AG intron と 1 つの CC-AC intron が切除されて Q504X8 が翻訳される頻度はそれぞれ 60.3% と 39.7% であることが判明した. 【会員外共同研究者】落合秋人 (新潟大院・自然), 谷口正之 (新潟大院・自然) 【利益相反】利益相反状態にはありません.

Analysis of the expression frequency of human salivary proline-rich protein P-B and its variant Q504X8 in the population

○Saitoh E¹, Imai A², Kato T³

¹Grad Sch Technol, Niigata Inst of Technol

²Dept Dent Hygiene, The Nippon Dent Univ Coll at Niigata

³Lab Chem, Tokyo Dent Coll

Human salivas and tears contain the proline-rich anti-periodontopathic bacteria protein P-B (57 residues; 5.8 K) which is harboring antidepressant/analgesic peptide and anti-cancer peptide. The NCBI gene data base proposed a tentative theory that two proteins, P-B and Q504X8 (84;9.6) might be produced by alternative splicing of the P-B-mRNA precursor. Recently, we identified Q504X8 in pooled whole saliva and proved the above theory. In this study, we attempted to identify Q504X8 in individual submandibular (SM)-sublingual (SL) saliva and tried to analyze the expression frequency of Q504X8 and P-B in the population. Under the approval of the research ethics committee, SM-SL saliva is collected from 29 healthy subjects, and saliva samples were separated by 15% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis and stained with silver. The expression frequency of Q504X8 was determined assuming that the protein X migrated to the position of 9.6 K was to be Q504X8. After reconfirming that P-B and X migrate to the positions of 5.8 K and 9.6 K, respectively, 29 saliva samples were investigated. As a result, three phenotypes, P-B/P-B, X/X and P-B/X, were observed at a ratio of 13:9:7. In conclusion, the frequency of P-B and Q504X8 was elucidated to be 60.3% and 39.7% .

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-36 唾液分泌に対するプロポフォール投与の影響

○古山 昭, 大須賀健二, 川合 宏仁

奥羽大 歯 口腔機能分子生物

【背景】プロポフォール静脈内鎮静法は歯科治療時の患者のストレス軽減に有効で広く用いられており、その薬効は中枢神経系の GABA_A 受容体活性増強によりもたらされることが解明されている。ところで、ベンゾジアゼピン系薬剤が末梢の GABA_A あるいはベンゾジアゼピン受容体を刺激し、唾液分泌を強く抑制することが報告されているが、プロポフォールが末梢の GABA_A 受容体に作用し、唾液分泌を抑制するかどうかは十分に検討されていない。【目的】プロポフォール静脈内鎮静下において、プロポフォールが唾液分泌量ならびに唾液タンパク質分泌に及ぼす影響を明らかにし、唾液分泌調節における末梢 GABA_A 受容体の機能を検討する。【材料と方法】1. 被験者：有志健康成人 12 名。平均年齢 30.8±5.3 才、平均体重 74.9±7.4Kg。2. プロポフォール投与方法：6 mg/kg/hr の投与速度で投与開始し、10 分間の初期負荷投与を行った後、3 mg/kg/hr の投与速度で 15 分間持続投与を行った。3. 安静時唾液分泌量測定：(1) 顎/舌下腺唾液：ロールワッテを左側舌下に 1 分間挿入し、浸潤した唾液重量を測定し、1g=1 mL とした。(2) 口唇腺唾液：ヨウ素デンブレン濾紙法を用いた。5：顎/舌下腺唾液サンプルを用いて総唾液タンパク質濃度を測定した。6：統計処理：Friedman's χ^2 -test および Bonferroni 補正を伴う Wilcoxon t-test にて検定を行い、危険率 5% 未満を有意差ありとした。【結果と考察】1. プロポフォールは顎/舌下腺および下唇腺の唾液分泌を有意に抑制した。これは、プロポフォールが GABA_A 受容体活性を増強し唾液分泌を抑制したことを示唆する。2. プロポフォールは顎/舌下腺の総唾液タンパク質濃度を有意に増大させた。原因は、唾液分泌量の低下がタンパク質分泌量の低下を上回ったためであろう。3. 唾液分泌量低下の原因は副交感神経活動抑制による腺房細胞の水分泌量低下、あるいは循環血流量低下の可能性もある。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Influence of propofol on salivary secretion

○Furuyama A, Ohsuga K, Kawaai H

Dept Oral Func Mol Biol, Ohu Univ Sch Dent

Some studies have shown that salivary secretion is remarkably suppressed by γ -aminobutyric acid type A (GABA_A) receptor agonists. We investigated the influence of one such GABA_A receptor agonist, propofol, on salivary flow rate and salivary protein secretion. Propofol significantly decreased the submandibular/sublingual and labial salivary flow rates ($p < 0.01$). On the other hand, it significantly increased the total salivary protein concentration in the submandibular/sublingual saliva ($p < 0.05$). It is suggested that propofol might decrease salivary flow rate by activating GABA_A receptors in the salivary glands. The salivary flow rate reduction caused by propofol administration may also be attributed to the suppression of parasympathetic activity that controls the salivary flow rate. The increase in total salivary protein concentration may be attributed to a decrease in water secretion rather than to an increase in protein secretion, because GABA_A receptor activation primarily results in a decreased water secretion from the salivary glands.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-37 悪性黒色腫細胞におけるヒスタチン遺伝子の転写調節領域

○今村 泰弘¹, 王 宝禮², 十川 紀夫¹

¹松歯大 歯科薬理

²大歯大 教育

【目的】ヒスタチンはカンジダ菌などに対して抗菌作用のある唾液蛋白質である。また、抗炎症作用を持つ生理活性物質である。これまでに我々は、唾液腺由来細胞におけるヒスタチン遺伝子 (*HIS*) の発現制御を明らかにした。また、悪性黒色腫細胞でも *HIS* が発現していることを示した。本研究では、悪性黒色腫 G-361 細胞における *HIS* の転写制御について詳細に検討した。【方法】これまでに、*HIS* プロモーター (-2254~+28 領域) は G-361 細胞で強く働くことをルシフェラーゼアッセイ (luc assay) により示した。また、このプロモーターの各種デレションミュータントを用いた解析から、-1361~-1192 領域は転写を正に制御することが明らかとなった。そこで、この領域の転写制御を更に調べるために、-1361 から -1319, -1276, -1233 まで欠失させたミュータントを作製し、G-361 細胞で luc assay を行った。また、-1232~-1192 領域をプローブとし、G-361 細胞核抽出物を用いてゲルシフト競合実験を行った。【結果】作製したデレションミュータントの luc assay により、-1232~-1192 領域は G-361 細胞において、転写を正に制御することが明らかとなった。また、この領域に結合する核内蛋白質の存在が認められ、特に、-1212~-1192 領域は核内蛋白質の結合に必要な領域であった。【考察】悪性黒色腫細胞で高く発現する *HIS* の転写調節領域が明らかとなり、唾液腺由来細胞とは異なった転写制御であることが示唆された。これは、ヒスタチンがある種のがん細胞で発現することに対して、何らかの生理的意義があるものと推測される。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Transcriptional regulatory region of the histatin gene in malignant melanoma cells

○Imamura Y¹, Wang PL², Sogawa N¹

¹Dept Dent Pharmacol, Matsumoto Dent Univ

²Dept Innov Dent Educ, Osaka Dent Univ

Histatins that possess antimicrobial activities against *Candida albicans* and anti-inflammatory action are bioactive salivary proteins. Our previous study showed the regulation of the histatin gene (*HIS*) expression in the salivary gland cells. *HIS* expression was also observed in the malignant melanoma cells (MMCs, G-361). Here, we examined transcriptional regulation of *HIS* in G-361 in more detail.

We showed strong transcriptional activity of the *HIS* promoter (-2254 to +28 region) in G-361 by luciferase assay. The region from -1361 to -1192 can work as a positive transcriptional regulatory element. Consequently, mutants deleting from -1361 to -1319, -1276, and -1233 were constructed, and transcriptional activities of those were measured. Gel mobility shift competition assay was performed using the region from -1232 to -1192 (41 bp) as a probe and nuclear extracts of G-361 cells.

The 41 bp region controlled transcription to positive, where nuclear proteins bound. In particular, the region from -1212 to -1192 was essential for binding with nuclear proteins.

The transcriptional regulatory region of the *HIS* promoter for high-expressing in MMCs emerged. Different transcriptional regulation between in MMCs and in salivary gland cells was suggested. This is presumed to have any physiological consequence in *HIS* expression in certain cancer cells.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-38 NOD と正常型マウス耳下腺における S100 タンパク質の発現比較

○佐藤 律子^{1,2}, 梨田 智子², 水橋 史³, 下村-黒木 淳子⁴, 森田 貴雄²

¹日歯大 新潟短大 歯科衛生, ²日歯大 新潟 生化

³日歯大 新潟 補綴 1, ⁴日歯大 新潟生命歯 小児歯

【目的】 S100 タンパク質 (S100) ファミリーは 20 種類以上知られており, それぞれに組織・細胞に特異的な発現が報告されている. S100 は様々な疾患との関連性が示唆されており, 種々の疾患マーカーとしての応用が検討されている. ヒト唾液にも S100 が含まれ, それらの起源が唾液腺である可能性が高いことから, 本研究は, 唾液腺における S100 の発現および疾患との関連の有無を明らかにする目的で, シェーグレン症候群のモデルマウスである non-obese diabetes (NOD) マウスの耳下腺における種々の S100 の発現を調べた. **【方法】** ヒト唾液のプロテオーム解析 (iTRAQ) を行った. マウスの耳下腺および耳下腺腺房細胞, ならびにラット三大唾液腺の cDNA マイクロアレイ解析の結果から, S100 の mRNA の発現を比較した. マウス耳下腺から抽出した RNA について RT-PCR を行い, qPCR にて S100 の mRNA 発現量を比較した. マウス耳下腺からホモジネートを作製し, ウェスタンブロッティング法により S100 のタンパク質の発現を比較した. **【結果】** ヒト唾液において, 12 種類の S100A と S100P が検出された. cDNA マイクロアレイ解析の結果, いくつかの S100 の発現がコントロールに比べて NOD マウスの耳下腺で低下していた. qPCR の結果, S100a1, S100a10, S100a11, S100b の発現が NOD マウスで正常型よりも低かったが, S100a6 の発現は NOD マウスで高い傾向が見られた. ウェスタンブロッティングの結果, S100a1 と S100a6 タンパク質の発現はコントロールと比較して NOD マウスで低かったが, S100b は NOD マウスで発現が高かった. S100a16 タンパク質に関しては, 予想と異なるサイズにバンドが見られた. **【考察】** NOD とコントロールマウスで, いくつかの S100 の mRNA およびタンパク質発現の違いが見られたことから, S100 と疾患との関連が考えられた. タンパク質と mRNA 発現パターンに違いが見られたことから, 今後これらの発現メカニズムの詳細な解析を行う予定である. **【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

Comparison of expression of S100 proteins in parotid glands of NOD and norma

○Sato R^{1,2}, Nashida T², Mizuhashi F³, Shimomura-Kuroki J⁴, Morita T²

¹Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ Col at Niigata

²Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

³Dept Remov Prosthodont, Nippon Dent Univ at Niigata

⁴Dept Pediatr Dent, Nippon Dent Univ at Niigata

The S100 protein family (S100) consists of over 20 members which include members with tissue- or cell-specific expression. All the functions of the proteins have not been elucidated but some are used for disease markers. As the S100 proteins are present in human saliva, we considered that the origin of some S100 proteins may be salivary glands, and the disease conditions in salivary glands reflects the saliva contents. Therefore, mRNA expression of S100 in parotid glands was studied to characterize the disease conditions of NOD mice, Sjögren's disease model mice. As the results of proteomics using iTRAQ, S100P and twelve types of S100A were detected in the human saliva. The cDNA microarray of salivary glands of NOD and wild-type mice showed that the expressions of several mRNAs of S100 were decreased in parotid glands of NOD mice compared to control. As the results of q-PCR, lower expression levels of S100a1, a10, a11 and S100b mRNAs but higher expression level of S100a6 mRNA were observed in NOD mice than the control. The results of immunoblotting showed lower expression levels of S100a1 and a6 proteins and higher expression level of S100b in NOD mice compared to the control.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-39 ピロカルピンおよびセビメリン刺激による遺伝子発現変化の違い

○森田 貴雄¹, 根津 顕弘², 佐藤 律子^{1,3}, 梨田 智子¹, 谷村 明彦²

¹日歯大新潟 生化, ²北医療大 歯 薬理, ³日歯大 新潟短大 歯科衛生

【目的】ピロカルピンとセビメリンは共にムスカリン受容体アゴニストであり、シェーグレン症候群における唾液分泌促進薬として使われているが、その副作用は若干異なっており、細胞内分子メカニズムが異なっていることが考えられる。我々は第59回本会において、ピロカルピン投与により顎下腺と脳における遺伝子発現が変化することを報告した。本研究では、これらのアゴニストの細胞内分子メカニズムの違いを明らかにすることを目的とし、唾液腺由来培養細胞および神経芽細胞腫由来細胞を用いてピロカルピンおよびセビメリン刺激による遺伝子発現変化を解析した。【方法】ピロカルピン (Pilo) として塩酸ピロカルピン (和光純薬) を、セビメリン (Cev) としてサリグレンカプセル (日本化薬) を用いた。麻酔下のラットに Pilo あるいは Cev を腹腔内投与し、唾液分泌量を測定すると共に、顎下腺及び脳組織から total RNA を抽出した。また、ヒト唾液腺由来培養細胞 (HSY) およびヒト神経芽細胞腫由来細胞 (SH-SY5Y) を Pilo あるいは Cev で刺激し、1~3 日後に total RNA を抽出した。遺伝子発現量の変化を RT-PCR および定量 PCR で解析した。PCR プライマーの設計は Primer 3 ソフトウェアを用いて行った。GAPDH の発現量を元に各遺伝子の発現量変化を比較した。【結果と考察】ラットへの Cev (1 mg/kg) 単回投与による唾液分泌、および1週間後の再投与による唾液分泌の増加は観察されなかった。また、いくつかの遺伝子で、Pilo では見られた発現変化が Cev では見られなかった。HSY および SH-SY5Y 細胞におけるこれらの遺伝子発現を RT-PCR により確認した。これらの細胞を Pilo あるいは Cev で刺激し、遺伝子発現変化を定量 PCR により解析したところ、いくつかの遺伝子で Pilo と Cev 刺激による発現変化が異なっていた。これらのことから、Pilo と Cev では唾液分泌に対する効果や遺伝子発現における分子メカニズムが異な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 difference of changes of gene expressions induced by stimulation with pilocarpine and cevimeline

○Morita T¹, Nezu A², Sato R^{1,3}, Nashida T¹, Tanimura A²

¹Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

²Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent

³Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ Col at Niigata

Pilocarpine (Pilo) and cevimeline (Cev), which are known to be secretagogues for xerostomia in patients with Sjögren's syndrome, cause the increases in saliva secretion through the activation of muscarinic receptor. However, the side effects of these drugs are different, implying that the intracellular mechanisms of these drugs are different. We found Pilo-induced changes of gene expression in rat submandibular gland (SMG) and brain. As the results of comparative RNA-seq analyses of gene expression in unstimulated and stimulated rat SMG and brain, the expressions of some genes were up- or down-regulated remarkably compared to unstimulated control. To elucidate the intracellular signal mechanisms of the expression of these genes, we analyzed the gene expression using human salivary cultured cells (HSY) and neuroblastoma cells (SH-SY5Y). As the results, the expressions of some genes were up-regulated or down-regulated by the stimulation of Pilo or Cev compared to that of unstimulated control. These results imply that Pilo and Cev have different molecular mechanisms in salivary secretion and gene expression.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-40 アセチルコリンによって生じる顎下腺の組織レベルで同調する Ca^{2+} オシレーションとその発生機構

○根津 顕弘¹, 森田 貴雄², 石井 久淑³, 谷村 明彦¹

¹北医療大 歯 薬理, ²日歯大新潟 生化, ³北医療大 歯 生理

アセチルコリン (ACh) を持続的に静脈投与すると顎下腺に組織レベルで同調した Ca^{2+} オシレーションが観察される. 本研究では, この Ca^{2+} オシレーションの発生機構を解明するため, 超高感度蛍光 Ca^{2+} センサーを使った *in vivo* Ca^{2+} イメージングシステムと二次元レーザースペックル血流計を用いた生体イメージングにより, ラット顎下腺の Ca^{2+} 動態と血流変化の解析を行った. ACh の持続投与により約 40~70 秒周期で Ca^{2+} 応答が上下に振動する組織レベルで同調した Ca^{2+} オシレーションが惹起された. この Ca^{2+} オシレーションはムスカリン受容体拮抗薬で抑制され, 自律神経節遮断薬では影響されなかった. 以上の結果から, Ca^{2+} オシレーションの発生に自律神経系のフィードバックの関与は少ないと考えられた. そこで Ca^{2+} 応答と血流動態の同時測定を行ったところ, Ca^{2+} オシレーションと同調した顎下腺血流の振動が観察された. これらの Ca^{2+} と血流の振動は Ca^{2+} 拮抗薬の前投与によって持続的な上昇へ変化した. 以上の結果から, Ca^{2+} オシレーションの発生に顎下腺の血流動態が関与することが明らかとなった. 血流振動を調節する因子を同定するため様々な遮断薬を用いたところ, アンジオテンシン II (Ang II) 受容体拮抗薬あるいは Ang 変換酵素 (ACE) 阻害薬の前投与により血流振動は持続的な上昇へ変化した. また ACE 阻害下で Ang II を静脈内に持続投与すると ACh による血流振動が回復した. 以上の結果は, 血流振動の制御に Ang II による血管収縮が重要な役割を果たすこと, さらに Ang II 濃度の振動は Ca^{2+} 及び血流振動の制御に必須ではないことを示唆する. Ca^{2+} と血流の振動が外分泌腺の分泌調節において何らかの役割を果たすと考えられ, その発生機構と生理的意義についてさらなる検討が必要である. 【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Mechanism of acetylcholine-induced tissue-wide synchronization of Ca^{2+} oscillations in rat submandibular gland

○Nezu A¹, Morita T², Ishii H³, Tanimura A¹

¹Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent

²Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

³Div Physiol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent

Continuous intravenous infusion of acetylcholine (ACh) causes Ca^{2+} oscillations synchronized at the tissue level where intracellular Ca^{2+} concentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) up and down in a cycle of 40–70 sec in rat submandibular gland (SMG). To examine the mechanism of the tissue-widely synchronized Ca^{2+} oscillations in SMG, we monitored Ca^{2+} responses and blood flows (BF) in live animals using the intravital Ca^{2+} imaging system and the laser speckle blood flow imager. Simultaneous monitoring of Ca^{2+} responses and BF dynamics demonstrated a synchronous fluctuation of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ and BF. Preadministration of Ca^{2+} antagonist, nifedipine changed the Ca^{2+} and BF oscillations to sustained elevations. Moreover, these oscillations were changed to sustained elevations by an angiotensin II (Ang II) receptor blocker, irbesartan or an angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor, enalapril. Under inhibition of ACE, continuous infusion of Ang II recovered ACh-induced BF oscillation. A ganglionic blocker, hexamethonium failed to attenuate the ACh-induced Ca^{2+} oscillations, excluding the involvement of feedback via sympathetic nervous system. These results suggest the critical roles of vasoconstriction by Ang II in the oscillation of Ca^{2+} responses and BF. In addition, the regulation of these oscillations does not require a fluctuation of Ang II concentration in plasma. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

P2-41 *Mitf* 遺伝子変異による咬筋の線維化とアポトーシスの誘導

○成山明具美¹, 大貫 芳樹², 吹田 憲治², 梅木 大輔³, 伊藤 愛子³, 八木澤由佳³,
石川美佐緒⁴, 朝田 芳信¹, 奥村 敏²

¹鶴大 歯 小児歯, ²鶴大 歯 生理

³鶴大 歯 矯正, ⁴鶴大 歯 解剖 I

【目的】小眼球症関連転写調節因子 MITF (Microphthalmia-associated transcription factor) は慢性カテコラミン刺激による心肥大および線維化, アポトーシスの発症過程に重要であることが報告されているが, 咬筋などの骨格筋における生理機能については不明である. そこで, 今回我々は, *mitf* 遺伝子変異型マウス (*mi/mi*) を用いて, 筋肥大効果のあるクレンプテロール[CB, β_2 -AR (アドレナリン受容体) 作動薬]を持続的に投与し, 咬筋の線維化およびアポトーシスに対する *mitf* 変異の影響を解析した. 【方法】12 週齢雄の *mi/mi* および野生型 (WT) マウスをそれぞれ Control 群と CB 群にわけて, 3 週間腹腔内投与後, 咬筋 (速筋), 前脛骨筋 (速筋), 心筋を採取した. その後, 各筋の筋線維横断面積 (CSA; μm^2), 線維化, およびアポトーシスについて解析した. 【結果】CSA の測定結果から, WT では CB 投与により咬筋 ($p < 0.01$), 前脛骨筋 ($p < 0.05$) では肥大効果が確認されたが, *mi/mi* では筋肥大は確認されなかった. *mi/mi* の咬筋および心筋では CB 投与に関係なく線維化がみとめられた ($p < 0.01$). また, *mi/mi* の咬筋および心筋では WT と比較してアポトーシスの増加がみとめられ ($p < 0.01$), その増加は CB 投与により抑制された ($p < 0.01$). 【結論】MITF は心筋だけでなく, 咬筋や前脛骨筋などの速筋型骨格筋においても, β_2 -AR 依存性の筋肥大と β_2 -AR 非依存性の線維化に重要な役割を果たすことが示唆された. また, β_2 -AR 作動薬が *mitf* 変異によるアポトーシスの誘導に対して抑制作用をもつことが示唆された.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

Role of microphthalmia-associated transcription factor on fibrosis and apoptosis in masseter muscle

○Nariyama M¹, Ohnuki Y², Suita K², Umeki D³, Ito A³, Yagisawa Y³, Ishikawa M⁴,
Asada Y¹, Okumura S²

¹Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med

²Dept Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

³Dept Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

⁴Dept Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Microphthalmia-associated transcription factor (MITF) is known to play an important role for the development of cardiac hypertrophy, fibrosis and apoptosis in response to chronic catecholamine stress. However, the role of MITF in masseter muscle (MA) remains poorly understood. In order to clarify the role of MITF on hypertrophy, fibrosis and apoptosis in masseter muscle as well as the inhibitory effects of clenbuterol (CB, β_2 agonist) on fibrosis and apoptosis induced by *mitf* gene mutation, we performed chronic β_2 -AR (adrenoceptor) stimulation with CB in microphthalmic mice (*mi/mi*) with the *mitf* gene mutation and wild-type controls (WT). The fibrosis of MA was significantly ($P < 0.01$) greater in *mi/mi* than that in WT, independently of the CB treatment. The apoptosis of MA was significantly ($P < 0.01$) greater in *mi/mi* than that in WT. However, the increase in apoptosis was significantly suppressed by the CB treatment in *mi/mi*. These results suggest that MITF plays important roles for the β_2 -AR-independent fibrosis and the β_2 -AR-dependent apoptosis in MA.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-42 咽頭・喉頭領域に発現している様々なイオンチャンネルと嚥下反射の関連

○ホッサインモハマドザキル¹, 安藤 宏², 海野 俊平¹, 増田 裕次³, 北川 純一¹

¹松歯大 歯 口腔生理

²松歯大 歯 生物

³松歯大 院歯 顎口腔機能制御

咽頭・喉頭領域における重要な生理学的機能の一つに嚥下反射がある。近年、咽頭・喉頭領域において様々なイオンチャンネルが検出されているが、これらのイオンチャンネルが嚥下反射の誘発に、どのように関与しているのかは明らかにされていない。我々は、咽頭・喉頭領域に発現しているイオンチャンネルと嚥下反射の関連を解明するための研究を行ってきた。最近の研究で、我々は咽頭・喉頭領域における TRPV1 および TRPM8 チャンネルの発現分布を示し、これらのチャンネルを介する求心性情報が嚥下反射の誘発を促進することを示した (Hossain et al. Int. J. Mol. Sci. 2018, 19(12), 4113)。本研究において、咽頭・喉頭領域における TRPA1 チャンネルへのアゴニスト刺激 (約 4°C の冷刺激ではなく) が、嚥下誘発を促進することを観察した。さらに、TRPV4 チャンネルのアゴニスト刺激は嚥下反射の誘発を促進した。また、ASIC チャンネルの嚥下反射に対する機能的関与を調べた。咽頭・喉頭領域における ASIC3 への酸およびアゴニスト刺激は嚥下反射の誘発を促進した。これらのイオンチャンネルのアゴニストによる嚥下誘発効果は、それぞれのアンタゴニストの咽頭・喉頭領域への前投与によって減少した。そのほか、咽頭・喉頭領域への機械刺激が嚥下誘発に効果的であることを考慮し、機械刺激で活性化する Piezo と嚥下誘発との関連も調べている。これらの結果は、様々なイオンチャンネルが嚥下反射に関与しており、それぞれのチャンネルの役割を理解することが嚥下障害に対する薬理的治療法の発見につなが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。

Electrophysiological evidence of involvement of different ion channels at the larynx and associated laryngopharyngeal regions in the swallowing reflex

○Hossain MZ¹, Ando H², Unno S¹, Masuda Y³, Kitagawa J¹

¹Dept Oral Physiol, Matsumoto Dent Univ

²Dept Biol, Matsumoto Dent Univ

³Inst for Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

Different ion channels in the swallowing related regions have been detected, however, their role in evoking swallowing reflex has not been elucidated. We have been conducting researches to elucidate the contribution of different ion channels in swallowing reflex. In a recent study, we showed that topical activation of TRPV1 and TRPM8 in the swallowing related regions facilitated the triggering of swallowing reflex. In the present study, we have observed that chemical but not thermal activation (around 4°C) of TRPA1, facilitated the triggering of swallowing reflex. Additionally, chemical activation of TRPV4 facilitated the triggering of swallowing reflex. We are also elucidating the functional involvement of ASIC channels in swallowing reflex. Activation of ASIC3 in the swallowing related regions by non-acid synthetic and natural agonists facilitated the triggering of the reflex. The number of reflexes triggered by agonists of these ion channels reduced by prior topical application of the respective antagonists. Furthermore, we are conducting researches to explore the involvement of other ion channels (e. g., mechanosensing Piezo channels) in the swallowing reflex. Our findings suggest that various ion channels are involved in swallowing reflex and understanding their role will lead to the discovery of pharmacological therapeutics for the management of dysphagia. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

P2-43 喉頭・領域を支配する上喉頭神経における TRP, ASIC および Piezo チャネルの発現

○安藤 宏¹, Hossain Mohammad Zakir², 海野 俊平², 増田 裕次³, 北川 純一²

¹松歯大 歯 生物, ²松歯大 歯 口腔生理, ³松歯大 院歯 顎口腔機能制御

目的：咽頭・喉頭領域で発生する感覚は、飲食物を飲み込む時の「のどごし」や「嚥下誘発」に重要であり、この感覚は、迷走神経の分枝である上喉頭神経 (SLN) に受容される。我々はこれまでに、温度や食物の成分等に応答する Transient receptor potential (TRP)チャネルのうち、43℃以上の温度および唐辛子の成分 (カプサイシン) や酸によって活性化する TRPV1 チャネル、冷刺激やメントール刺激に応答する TRPM8 チャネルが SLN に発現し、これらのアゴニストの投与は、SLN の活性化を介して嚥下の誘発を促進することを示した (Hossain et al. Int. J. Mol. Sci. 2018, 19 (12), 4113)。本研究の目的は、咽頭・喉頭領域の感覚を支配している SLN において、その他の様々な受容体の発現分布を免疫組織学的方法により検索することである。方法：SD ラットを用い、SLN の切断端から逆行性神経トレーサーフルオロゴールド (FG) を SLN の感覚神経の細胞体が存在する nodose petrosal and jugular ganglionic complex (NPJc) まで注入した。3~4 日後ホルマリン還流固定し、NPJc を摘出して凍結切片を作成した。1 次抗体として、冷刺激やワサビ刺激に応答する TRPA1 チャネル、浸透圧や機械刺激により活性化すると考えられている TRPV4 チャネル、酸によって活性化する ASIC3 チャネル、機械刺激により活性化される Piezo1 チャネルおよび Piezo2 チャネルの抗体を用い、これらのチャネルの免疫局在を観察した。結果・考察：NPJc において FG で染色された SLN の感覚神経細胞体に、TRPA1, TRPV4, ASIC3, Piezo1 および Piezo2 チャネルがそれぞれ発現していることが観察された。これらの結果から、上喉頭神経に発現している TRPA1, TRPV4, ASIC3, Piezo1 および Piezo2 チャネルが、飲食物を飲み込む時の「のどごし」感覚の形成に関与し、さらに「嚥下誘発」に重要な役割をはたし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。

Expression of TRP, ASIC and Piezo channels in the superior laryngeal nerve innervating the larynx and associated laryngopharyngeal regions

○Ando H¹, Hossain MZ², Unno S², Masuda Y³, Kitagawa J²

¹Dept Biol Sch Dent Matsumoto Dent Univ

²Dept Oral Physiol Sch Dent Matsumoto Dent Univ

³Dept Oral Maxillofac Biol Grad Sch Oral Med Matsumoto Dent Univ

The afferent neurons of superior laryngeal nerve (SLN) play an important role for induction of swallowing. In a recent study, we observed that TRPV1 and TRPM8 channels localized in the SLN-afferent neurons and activation of these channels by their chemical agonists facilitated the triggering of swallowing reflex. In the present study, we explore the localization of TRPA1, TRPV4, ASIC3, Piezo1 and Piezo2 channels, in the nodose-petrosal-jugular ganglionic complex (NPJc) that contains cell bodies of SLN-afferent neurons. SLN-afferent neurons in the NPJc were identified by using a retrograde tracers (fluorogold), applied on the cut end of the SLN. Four days after fluorogold application, NPJc sections were immunostained with antibodies of different ion channels. We observed that fluorogold-labeled NPJc neurons express TRPA1, TRPV4, ASIC3, Piezo1 and Piezo2 channels. Our findings suggest that different ion channels are expressed on SLN-afferent neurons and they may be involved in transduction of different sensory stimuli appeared in the pharyngeal and laryngeal regions during swallowing of different kind of foods. The findings also suggest that different ion channels may be involved in triggering of swallowing reflex.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-44 ヒト舌下神経節の所在と形態に関する肉眼解剖学・顕微解剖学的研究

○高橋 昌己, 坂倉 康則

北医療大 歯 解剖

舌神経は下顎第二大臼歯舌側の口底粘膜下を前方に走行し、正中側深層から出現する顎下腺管と交差する。その交差以前に、神経線維が顎下腺へ分枝し、舌下腺に向かう多くの神経線維は交差部付近から分枝する。両唾液腺の分泌に関わる副交感神経節は顎下神経節であるといわれ、多くの教科書や図譜に描かれている。しかし、舌下神経節は解剖学用語（改訂13版）に記載されているが、解剖学の教科書にはほとんど記載されていない。「Lehrbuch der Anatomie des Menschen」(A Rauber, 1898年)の模式図にあるに過ぎない。近年、舌下神経節の存在が肉眼解剖学的に報告された。しかし、細胞体の集合という形態であるかは不明である。今回、舌神経の舌下腺への分枝を記録し、舌下神経節の所在について顕微解剖学的にも検討した。学生実習に使用した解剖体を4体用いた。左右両側の口底粘膜下で舌神経を中枢側より剖出し、顎下腺と舌下腺へ進入する神経線維を剖出した。剖出後撮影し、分枝状況を記録した。神経線維の分枝部を含む舌神経を採取し再固定し、パラフィン包埋切片にH-E染色を施し、舌下神経節の細胞体の所在を顎下神経節のそれと同時に検索した。剖出された舌神経は顎下腺の上部腺体に近接し走行しており、舌神経から分枝した神経線維が顎下腺に向けて走行していた。さらに、舌下腺近傍で舌神経からの神経線維が確認された。顕微解剖学的には、顎下腺上部腺体に近接する部位で多数の細胞体の集積が一塊の神経節構造として認められ、顎下神経節であった。一方、舌下腺にむけて分枝した神経線維には細胞体の集積が小さな神経節構造として複数散在した。以上から、舌下神経節は明らかな神経節構造として認められたが、その所在部位は舌神経から舌下腺へと分枝した直後の神経線維の内に複数の神経節として存在した。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Gross anatomy and microanatomical study on location and morphology of human sublingual ganglia

○Takahashi M, Sakakura Y

Div Anat, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

The lingual nerve passes forward in the submucosal layer on the mandibular second molar lingual side. It intersects with the submandibular duct. Before the crossing, nerve fibers branch into the submandibular gland, branch from near the intersection to the sublingual gland. The submandibular ganglia are described to involve in the secretion of both glands in many textbooks. On the other hand, although the sublingual ganglia are described in anatomical terms, it is hardly described in textbooks of anatomy. It is unclear whether it is in the aggregation of cell bodies. We recorded the branch of the lingual nerve to the sublingual gland and examined the location of the sublingual ganglion microanatomically. Four anatomical bodies used for student training were used. The lingual nerve including the branch part of nerve fiber was recorded and collected. The samples were refixed and embedded. The nerve passed close to the upper submandibular gland, and fibers branched toward the submandibular gland. Some fibers were identified near the sublingual gland. Accumulation of cell bodies was recognized close to the submandibular upper gland. On the other hand, multiple accumulations of cell bodies were scattered as small ganglion structures in the nerve fibers branched to the sublingual gland.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-45 マウス島皮質のシナプス長期増強におけるニコチン受容体の役割

○豊田 博紀, 佐藤 元, 加藤 隆史

阪大 院歯 口腔生理

【目的】ニコチン受容体は中枢神経系において豊富に発現しているが、シナプス活動に及ぼす影響については不明な点が多い。本研究では、マウス島皮質錐体細胞のシナプス伝達や可塑性が、ニコチン受容体の活性化によりどのように修飾されるかを検討した。【方法】C57BL/6 マウスの島皮質第3層及び第6層錐体細胞から記録される自発性興奮性及び抑制性シナプス伝達 (sEPSC 及び sIPSC) が、ニコチン受容体の活性化によりどのように修飾されるかを検討した。また、島皮質第3層及び第6層錐体細胞において誘導されるシナプス長期増強が、ニコチン受容体の活性化によりどのように修飾されるかを検討した。【結果】ニコチン受容体の活性化により、第3層錐体細胞から記録される sEPSC の頻度及び振幅は変化しなかったが、第6層錐体細胞から記録される sEPSC の頻度及び振幅は増加した。島皮質第3層及び第6層錐体細胞から記録される sIPSC の頻度及び振幅は、ニコチン受容体の活性化により増加していた。これらの増加は、 $\alpha 4\beta 2$ ニコチン受容体拮抗薬により抑制された。島皮質第3層錐体細胞で誘導されるシナプス長期増強は、ニコチン受容体の活性化により抑制され、こうしたシナプス長期増強抑制効果は、GABA_A受容体拮抗薬及び $\alpha 4\beta 2$ ニコチン受容体拮抗薬により抑制された。一方、第6層錐体細胞で誘導されるシナプス長期増強は、ニコチン受容体の活性化により促進され、こうしたシナプス長期増強促進効果は、 $\alpha 4\beta 2$ ニコチン受容体拮抗薬により抑制された。【結論】島皮質第3層錐体細胞において誘導されるシナプス長期増強は、 $\alpha 4\beta 2$ 型ニコチン受容体を介した GABA 作動性シナプス伝達の増大により、抑制されることが明らかになった。島皮質第6層錐体細胞において誘導されるシナプス長期増強は、 $\alpha 4\beta 2$ 型ニコチン受容体を介して促進され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。

Role of nicotinic acetylcholine receptors in synaptic potentiation in the mouse insular cortex

○Toyoda H, Sato H, Kato T

Dept Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) in the insular cortex play an important role in nicotine addiction, but its synaptic mechanisms still remain unresolved. In layer 5 pyramidal neurons of the mouse insular cortex, activation of nAChRs suppresses synaptic potentiation through enhancing GABAergic synaptic transmission. However, it has not been addressed whether and how activation of nAChRs modulates synaptic plasticity in layers 3 and 6 pyramidal neurons of the insular cortex. In this study, we demonstrate that activation of nAChRs oppositely modulates synaptic potentiation in layers 3 and 6 pyramidal neurons of the insular cortex. In layer 3 pyramidal neurons, activation of nAChRs depressed synaptic potentiation induced by combination of presynaptic stimulation with postsynaptic depolarization through enhancing GABAergic synaptic transmission via activation of $\beta 2$ -containing nAChRs in non-FS interneurons. By contrast, in layer 6 pyramidal neurons, activation of nAChRs enhanced synaptic potentiation through activating postsynaptic $\beta 2$ -containing nAChRs. These results indicate, in different layers of the mouse insular cortex, paired training-induced synaptic potentiation is oppositely regulated by activation of nAChRs which are located on GABAergic interneurons (layer 3) and on pyramidal neurons (layer 6). Thus, layer-specific modulation of synaptic potentiation may be involved in synaptic mechanisms of insular cortical changes in nicotine addiction.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-46 混合味溶液の内容成分を識別するにはどの程度の時間が必要か？

○山村 知暉, 安尾 敏明, 諏訪部 武, 裕 哲崇

朝日大 歯 口腔生理

本研究は、この含有成分識別にはどの程度の時間、味溶液を味わう必要があるかを味覚嫌悪条件づけを用いた行動学的実験によって検討したものである。実験には雄性 Wistar/ST ラット（実験開始時 8 週齢）を用い、味溶液呈示時間に応じて、10 秒、30 秒または 1 分の 3 群（各群 n=5）に分け、すべてのラットにこの時間だけ、100 mM ショ糖 (Suc) と 30 μ M 塩酸キニーネ (Q) の混合味溶液を条件刺激 (CS) として呈示した後、0.15M の塩化リチウムを腹腔内に投与し、味覚嫌悪条件づけ獲得を試みた。1 日の回復期間をおいたのち、条件づけ 2 日目から CS に対する条件づけ効果が消失するまでの毎日、CS とその含有成分溶液および基本味溶液に対する 10 秒間リック数を測定した。その結果、いずれの群のラットも CS とその含有物である S と Q に対するリック数を減少させた。また、CS には含有されていない 0.1 M 食塩水に対するリック数の減少はみられなかったことから、これらのラットは、単純に味のついている溶液を忌避しているのではなく、CS 含有物の味質を十分認識して忌避行動を起こしているものと考えられた。また、条件づけ効果の消去過程を比較検討したところ、CS 呈示時間の違いにより有意な主効果がみられ (ANOVA; $P < 0.001$)、特に、10 秒呈示群では 30 秒呈示群や 1 分呈示群のものとは比べ条件づけ効果の消去が早いことが確認された。また、含有物である S と Q に対する消去過程においても同様の結果が認められた。以上の結果から、混合味溶液の含有成分の認識にはさほど長い時間は必要なく、短時間でも十分に認識可能であるものの、その記憶保持時間は、味溶液を味わっている時間に依存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。

How long time are needed for the rats to recognize the components of the mixed taste solution?

○Yamamura T, Yasuo T, Suwabe T, Sako N

Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent

We investigated how long time were needed for rats to recognize the components of the mixed solution by using the conditioned taste aversion (CTA) technic. Tested rats were divided into 3 groups (n=5 for each) by the presented time of conditioned stimulus (CS), such as 10 sec, 30 sec or 1 min. A binary mixed taste solution of 100mM sucrose (S) and 30 μ M quinine hydrochloride (Q) was used as a conditioned stimulus (CS). The number of licks per 10 sec for CS, its components and other basic tastes were measured until their conditioning were disappeared. As results, all groups of rats could acquire the CTA, and recognize its components. But they did not suppress their number of licks for 0.1M NaCl, which was not in the CS. When extinction-curves for CS, S and Q were compared with each group, statistical analysis of ANOVA found a main effect in presentation time of CS. These results suggest that rats can recognize the components of mixed taste solution lower than 1 min, and that the presented time of taste solution is related to retention-time of memory for the contents of presented solution.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-47 ビタミン C 欠乏誘発性の食欲不振とビタミン C 欲求

○安尾 敏明, 諏訪部 武, 山村 知暉

朝日大 歯 口腔生理

超高齢社会を迎えた近年, 介護の現場で, 高齢者の低栄養 (微量栄養素不足) や食欲不振が問題となっており, オーラルフレイルや口腔機能低下症との関連性が報告されている。味覚や食に対する嗜好性が微量栄養素の充足度にどのように影響を与えているのか解明し, 新たな治療法を確立することが必要である。ビタミン C (VC) 欠乏 (壊血病) では, 食欲不振とそれに伴う体重の減少, 歩行困難, う蝕, 象牙質形成不全, 歯周病, 歯の脱落やドライマウスが生じることから, VC の摂取は口腔疾患を予防するのに重要であると考えられる。これまでに, VC 合成能が欠如した Osteogenic disorder Shionogi (ODS) ラットは, VC 欠乏時に, VC を含む酸に対する味覚神経応答が低下し, VC の摂取量が増加し, 食餌量, 体重や飲水量が減少することを私たちは報告してきた (Yasuo et al., 2019)。本研究では, ODS ラットにおける VC 欠乏時の食欲不振 (体重減少) が, VC の摂取行動に影響を及ぼしているのかどうかを明らかにするために, 2 瓶選択法を用いて, VC が欠乏した ODS ラットと, これらラットと同じ体重になるように毎日の食餌量を調整した VC が欠乏していない体重コントロール (BWC) ODS ラットの 10mMVC 水溶液と水の 1 日摂取量を測定した。その結果, VC が欠乏した ODS ラットでは, VC 水溶液の摂取量が増加し, 水の摂取が減少したのに対し, BWC の ODS ラットでは, 水の摂取は減少したが, VC 水溶液の摂取量に変化はなかった。以上の結果から, VC 欠乏時の VC の摂取行動は, 体重減少によって引き起こされていないこと, VC 欠乏による食欲不振は, 体重を減少させ, 水の摂取量を減少させている可能性が示唆された。VC 欠乏時の VC 欲求は味覚神経の酸に対する感受性の低下と関係している可能性もあり, 今後さらなる研究が必要である。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

vitamin C deficiency-induced anorexia and appetite for vitamin C

○Yasuo T, Suwabe T, Yamamura T

Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent

Vitamin C (VC) deficiency causes anorexia, body weight loss, reduction of taste nerve responses (Yasuo et al., 2019), dysbasia, dental caries, dysfunctional dentine formation, gingivitis, and dry mouth. It seems likely that the appetite for VC plays an important role in order to prevent oral diseases. In the previous our study, VC-deficient osteogenic disorder Shionogi (ODS) rats, which lack the ability to synthesize VC, showed elevated VC intakes. In this study, we measured daily consumption of VC solution and water in VC-deficient ODS rats and body weight control (BWC) ODS rats using two-bottle choice tests to determine whether body weight loss of VC-deficient ODS rats might influence VC intake. BWC ODS rats were fed a limited amount of control diet every day; the amount provided was adjusted so that the body weight of these rats was equal to that of the VC-deficient ODS rats. We found that the VC-deficient rats showed an increase in VC intake and a decrease in water intake; in contrast, BWC rats showed a decrease in water intake but no change in VC intake. These data suggest that the change in VC intake displayed by VC-deficient rats cannot be accounted for by changes in body weight.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-48 反復的な強制水泳ストレスが誘発する吻側延髄腹側部ニューロンの応答特性の変調

○黒瀬 雅之¹, 長谷川真奈², 佐藤 義英³, 藤井 規孝², 山村 健介¹, 岡本圭一郎¹

¹新潟大 院医歯 口腔生理, ²新潟大 医歯病 歯総診, ³日歯大新潟 生理

【目的】繰り返すストレスに伴う口腔顔面痛の増大は、下行性疼痛制御系の主役である、吻側延髄腹側部 (RVM) の機能変調を基盤とする。ストレスによる脳内セロトニン機構の変調は、うつや痛みなど負の応答を引き起こすが、吻側延髄腹側部 (RVM) の機能発現に対する影響は不明である。本研究の目的は、繰り返すストレスモデルラットの RVM から記録される 3 種類の神経細胞 (On-, Off, Neutral-cell) に着目し、RVM ニューロンの興奮性に対するセロトニン機構の関与を明らかにすることである。【方法】SD ラットを、1: 強制水泳ストレス群 (FST) 2: FST+SSRI (抗うつ薬) 投与群 3: SHAM 群 4: SSRI 投与群の 4 群に分けた。細胞外記録手法を用いて、顔面皮膚への侵害性熱刺激 (52 度) による応答性から、RVM を 3 つのニューロンに分類し、それぞれのニューロンにおける熱刺激に対する応答特性を群間で比較検討した。解析には、熱刺激中に誘発された神経応答に加えて、刺激終了 5 分間の神経活動量を対象とした。【結果】FST 群で、刺激終了後も持続する On-Cell 活動の亢進が誘発された。Off-Cell は、刺激中の "Pause" の有意な延長が見られた。Neutral-Cell は、すべての群で熱刺激に応答しなかった。FST 群では、SSRI の投与は FST による On-, Off-Cell の応答特性の変化を抑制したのに対し、SHAM 群では、SSRI の投与は応答特性に影響を及ぼさなかった。【考察】繰り返すストレスは、RVM での顎顔面部の侵害応答を増大させる。そして、その分子基盤はセロトニン機構の変調が関連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。

Psychological stress induced by the repeated force swim stress modulates response properties in the rostral ventromedial medulla

○Kurose M¹, Hasegawa M², Satoh Y³, Fujii N², Yamamura K¹, Okamoto K¹

¹Div Oral Physio, Niigata Univ Grad Sch Med Dent

²Unit Dent Educ, Niigata Univ Hosp

³Dept Physiol, Nippon Dent Univ at Niigata

Introduction Increases in orofacial nociception due to dysfunction of descending pain controls are explained by neural plasticity in the rostral ventromedial medulla (RVM), while repeated stress can induce psychological distress and chronic pain through dysfunction of serotonergic mechanisms. In this study, we tested the role of serotonergic mechanisms on neural activities in the RVM under repeated stress conditions. **Material and Methods** SD rats were assigned to repeated forced swim stress (FST), sham, FST + fluoxetine (Selective Serotonin Reuptake Inhibitors: SSRI) and sham + SSRI groups. Three types of units (On-, Off- and Neutral-cell) were characterized by the responsiveness to noxious heating stimulation (52C) to facial skin. Heat-evoked responses for these neurons are quantified in each groups. **Results** FST increased neural activities of ON- cells, which was due to increases in prolonged after-discharges. FST had modulatory effects on OFF-cell activity indicated by prolonged the pause duration in spontaneous discharge. FST-induced changes of response properties were prevented by the systematic application of the SSRI. FST had no effects on spontaneous discharge in Neutral-cell. **Discussion** These data supported the notions that increases in orofacial nociception in the RVM could be due to dysfunction of serotonergic mechanism under repeated FST conditions.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-49 口腔機能発達における間歇的低酸素負荷の影響

○下田 麻央^{1,2}, 豊田 博紀¹, 片桐 綾乃¹, 佐藤 元¹, 秋山 茂久², 加藤 隆史¹

¹阪大 院歯 口腔生理

²阪大 歯病 障害歯

[目的] 乳幼児期の各種ストレスは、脳機能発達に重要な役割を果たす可能性が示唆されるが、口腔機能発達に果たす役割を検討した研究は少ない。本研究では、脳機能発達に影響を与えることが報告されている間歇的低酸素負荷が、口腔機能発達に果たす役割を検討することを目的とした。[方法] 生後7日目のSD雄性仔ラット5匹に7日間の間歇的低酸素負荷(酸素濃度21%-5%, 3分周期, 明期9:00-15:00)を施し、間歇的低酸素負荷群とした。コントロール群のラット10匹は、通常室内気(酸素濃度21%)で飼育した。2群のラットにおいて、生後14日目から35日目まで約24時間ビデオ撮影を行い、離乳前のペレット摂食開始時期および飲水開始時期を観察した。また、同期間に、一日一回体重測定を行った。さらに、生後42日目から50日目において、パスタ(直径0.9mm, 長さ4cm)の摂食時間(口腔内への取り込み開始から終了までの時間)およびペレットの摂食量(10分間)を計測した。[結果] 生後14日目から35日目にかけて、コントロール群では平均(標準偏差)92±10g, 間歇的低酸素負荷群では、111±16g体重が増加した。ペレット摂食開始時期は、コントロール群で16日目、間歇的低酸素負荷群で14-16日目であり、飲水開始時期は、それぞれ14-16日目および15-16日目であった。間歇的低酸素負荷群ではコントロール群と比較して、パスタの摂食時間は長く、ペレットの摂食量は少ない傾向を示したが、有意差は認められなかった。[考察] 生後7日目の仔ラットに対する一週間の間歇的低酸素負荷は、体重増加、離乳前の摂食・飲水開始時期、および、生後42日目から50日目における摂食時間・量に大きな影響を及ぼさない可能性が示唆される。しかし、今後、実験条件設定や口腔機能評価方法等のさらなる検討が必要である。

[利益相反] 利益相反状態にはありません。

Effects of postnatal intermittent hypoxia on development of oral functions in rats

○Shimoda M^{1,2}, Toyoda H¹, Katagiri A¹, Sato H¹, Akiyama S², Kato T¹

¹Dept Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

²Div Spec Needs Dent, Osaka Univ Dent Hosp

[Purpose] This study was aimed to investigate how postnatal development of oral functions is affected by intermittent hypoxia (IH) which causes impairment of brain function development. [Methods] Male SD rats were exposed to IH (O₂:21%-5%;3 min cycle,9:00-15:00) from postnatal day 7 (P7) to P14 (n=5) or to room air (n=10). During P14 to P35, feeding and drinking behaviors were monitored by video camera, and body weight was measured daily. During P42 to P49, the time for finishing a pasta stick and the amount of pellets eaten were assessed by video records. [Results] The increases in body weight were not significantly different between control and IH rats. In control and IH rats, the feeding and drinking behaviors emerged at P14-16. Compared with control rats, the time of finishing a pasta stick seemed to be longer and the amount of pellets eaten seemed to be less in IH rats, although not statistically significant. [Discussion] Within the limitation of this study, IH during P7 to P14 has little effects on weight gain, feeding/drinking initiation and eating behaviors at early adulthood. Further studies to evaluate the effects of IH on various oral functions would be necessary.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-50 ラットの口腔顔面感覚神経節におけるレニン-アンジオテンシン系とアンジオテンシン II 受容体

○諏訪部 武, 安尾 敏明, 裕 哲崇

朝日大 歯 口腔生理

【目的】口腔顔面領域の感覚系におけるレニン-アンジオテンシン系の役割を明らかにするために、ラット三叉神経節および膝神経節におけるレニン-アンジオテンシン系の構成要素およびアンジオテンシン II 受容体の遺伝子発現を検討した。レニン-アンジオテンシン系の最終生成物であるアンジオテンシン II は、アンジオテンシン II 受容体の活性化を通じて血圧および体液・電解質バランスを制御することが知られている。近年、アンジオテンシン II は、神経細胞における受容体の活性化を介して神経細胞の興奮性、神経突起伸長および神経細胞の移動を調節することが報告されている。受容体が神経回路に発現している場合、アンジオテンシン II は受容体を介して神経回路の形成および機能を制御している可能性があるかと仮定した。【方法】三叉神経節および膝神経節は麻酔下のラットから採集した。これらの神経節から全 RNA を抽出し、逆転写によって RNA テンプレートから cDNA を合成した。遺伝子発現レベルはリアルタイム PCR により決定した。【結果と結論】アンジオテンシノーゲン、レニン、アンジオテンシン変換酵素、アンジオテンシン II タイプ 1a, タイプ 1b およびタイプ 2 受容体 mRNA の発現は両方の神経節で認められた。この結果は、三叉神経節および膝神経節のレニン-アンジオテンシン系で産生されるアンジオテンシン II が、各神経節に発現する受容体を介して口腔顔面領域の感覚神経回路を制御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。

Renin-angiotensin system and angiotensin II receptors in orofacial sensory ganglia of rats

○Suwabe T, Yasuo T, Sako N

Dept Oral Physiol, Div Oral Funct Sci Rehabil, Asahi Univ Sch Dent

< Purpose > To clarify the role of the renin-angiotensin system (RAS) in the orofacial sensory systems, we investigated gene expression of RAS components and angiotensin II receptors in the trigeminal and geniculate ganglia of rats. Angiotensin II, the end-product in the RAS, is well known to control blood pressure and fluid/electrolyte balance through activation of angiotensin II receptors. Recently, angiotensin II has been reported to modulate neuronal excitability, neurite elongation and neuronal migration through activation of the receptors in neuronal cells. We hypothesized that if the receptors are expressed in neural pathway, angiotensin II may regulate formation and function of neural circuit via the receptors. < Methods > The trigeminal and geniculate ganglia were obtained from rats under anesthesia. Total RNA was extracted from these ganglia and cDNA was synthesized from the RNA template by reverse transcription. The gene expression levels were determined by real-time PCR. < Results & Conclusions > Expression of angiotensinogen, renin, angiotensin-converting enzyme, angiotensin II type-1a, -1b and type-2 receptor mRNAs were evident in both ganglia. This result suggests that angiotensin II produced in the local RAS may regulate orofacial sensory circuit via the receptors expressed in the trigeminal and geniculate ganglia.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-51 抗菌剤を投与した2型糖尿病モデルラット口蓋粘膜の創傷治癒

○上村 守, 折原 博一, 角 陽一, 盛植紘太郎, 川島 渉, 戸田 伊紀
大歯大 解剖

自然発症型2型糖尿病モデルラット (Goto-Kakizaki ラット: GK ラット) において, 口蓋粘膜に実験的欠損創を作製した際, 抗菌剤を投与することにより, どの様に治癒されるかを明らかにすることを目的とした. 8週齢 Wistar 系雄性ラット 18匹を正常群として, 同週齢雄性 GK ラット 18匹を糖尿病群として合計 36匹の実験動物を用いた. 両群で生検トレパンにて上顎右側第一臼歯口蓋側粘膜に直径 1.5 mm の骨膜も含めた全ての軟組織を除去した円柱状の欠損創を作製した. 術直後, 抗菌薬を腹腔内投与した. 術後 1, 3, 5, 7, 14, 28 日の治癒期間を置き, 3匹ずつを組織標本に供した. 粘膜上皮の創傷治癒について, 正常群では術後3日で粘膜上皮の伸展, 結合がみられたのに対し, 糖尿病群では術後7日で粘膜上皮の伸展, 結合が見られた. よって, 糖尿病群は, 正常群に比べ, 上皮による創傷の被覆が遅れていた. 粘膜固有層の創傷治癒について, 肉芽組織は正常群では術後5日に, 糖尿病群では術後7日にみられた. 膠原線維は正常群では術後7日に, 糖尿病群では術後14日にみられた. 肉芽組織も膠原線維のいずれも出現時期が遅れていた. また, 抗菌薬無投与では, GK ラットでは腐骨が高頻度 (83%) で形成されていたと報告されていたが, 本研究では, 抗菌薬を投与していれば両群ともに腐骨は形成されなかった. したがって, 歯科臨床において糖尿病患者の口蓋粘膜に欠損を伴う外科的処置を行う場合, 抗菌薬を投与し, 創傷治癒に対して, 注意を要する事が示唆された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Palatal mucosal wound healing after administration of an antibacterial drug in type 2 diabetes model rats

○Uemura M, Orihara H, Sumi Y, Moriue K, Kawashima W, Toda I

Dept Anat, Osaka Dent Univ

We investigated the effect of antibiotic administration on spontaneous healing in Goto-Kakizaki (GK) rats with type 2 diabetes and an experimentally formed defect in the palatal mucosa, comparing a control group of 18 male 8-week-old Wistar rats and a diabetes mellitus (DM) group of 18 male 8-week-old GK rats. In both groups, a cylindrical defect 1.5 mm in diameter was formed in the maxillary right first molar region of the palatal mucosa using a biopsy punch to remove all the soft tissue, including the periosteum. Immediately after this surgery, an antibiotic was administered intraperitoneally. Three animals per group were sacrificed for histological specimen at healing periods of 1, 3, 5, 7, 14 and 28 days after the surgery. It took longer for the wound to be covered with epithelium in the DM group than in the control group, and the appearance of granulation tissue and collagen fibers in the lamina propria was delayed. No sequestrum formation occurred in either group. The results of our comparative histological observations showed that spontaneous healing was delayed in GK rats compared with the controls. Our results suggest that if an antibiotic is administered, sequestrum formation may not occur.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-52 マウス腫瘍モデルにおけるインターフェロン誘導性ケモカインの抗腫瘍活性

○森 一将¹, 廣井 美紀², 松本 安吏¹, 嶋田 淳¹, 大森 喜弘²

¹明海大 歯 病態診断治療 口腔顎顔面外科 1

²明海大 歯 口腔生物再生医工 微生物

【目的】 インターフェロン誘導性ケモカインの抗腫瘍活性を検討するために、マウス扁平上皮癌細胞 SCCVII に CXCL9 (Mig), CXCL10 (IP-10), CXCL11 (I-TAC) の発現ベクターを遺伝子導入し、安定発現細胞株を作製し、ヌードマウスに移植後、腫瘍形成に対する影響を検討した。**【結果】** Empty Vector 導入株 (NC 群) 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。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、NK 細胞のマーカーである Perforin ならびに血管内皮細胞マーカーである Cd31 の遺伝子発現をリアルタイム PCR を用いて検討した。その結果、CXCL9 及び CXCL11 発現細胞株では Perforin の発現が有意に上昇していた。また CXCL11 発現細胞株では Cd31 の発現は抑制傾向が認められた。免疫組織学的に CD161 (NK1.1) および CD31 の発現について検討したところ CXCL9, CXCL11 群で CD161 の発現増加と CD31 の抑制が認められた。また F4/80 (マクロファージ系細胞) の発現を比較検討したところ腫瘍実質の表層部において NC 群と比較して CXCL9, CXCL11 群に有意な F4/80 陽性細胞率の増加が認められた。**【考察】** ヌードマウスは T 細胞が欠損していることから、CXCL9, CXCL11 群において浸潤した 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が抑制されたものと考えられる。CXCL9, CXCL11 群では F4/80 陽性細胞の浸潤も認められることからマクロファージ系細胞も腫瘍の進展の抑制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。

Antitumor activity of interferon-inducible chemokines in a mouse tumor model

○Mori K¹, Hiroi M², Matsumoto A¹, Shimada J¹, Ohmori Y²

¹Div Oral Maxillofac Surg, Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent

²Div Microbiol Immunol, Dept Oral Biol Tissue Eng Meikai Univ Sch Dent

Purpose: To investigate the antitumor activity of interferon-inducible chemokines, we established stable cell lines transfected with expression vectors of CXCL9 (Mig), CXCL10 (IP-10), and CXCL11 (I-TAC) into the mouse squamous cell carcinoma cell line, SCCVII, and examined the effect of these chemokine-expressing cell lines on tumorigenesis after transplantation into nude mice. **Result:** Significant suppression of tumorigenesis was observed in CXCL9 and CXCL11 expressing cell lines compared to the empty vector-transfected strain. In order to investigate the mechanism of tumorigenesis suppression, total RNA was extracted from tumor tissues and levels of Perforin, a marker of NK cells, and Cd31, a marker of vascular endothelial cells, were examined using real-time RT-PCR. Perforin was significantly upregulated in CXCL9 and CXCL11 groups, while Cd31 was downregulated. Immunohistochemical analysis for CD161 (NK1.1) and Cd31 showed similar results. In addition, significant increase in the abundance of F4/80-positive cells, macrophage-lineage cells, was observed in the CXCL9 and CXCL11 groups. **Discussion:** These results indicate that CXCL9 and CXCL11 suppressed tumor growth via the cytotoxic effect of infiltrated NK cells and growth inhibitory effect of vascular endothelial cells. In addition, infiltration of F4/80-positive cells was suggested to be involved in the suppression of tumorigenesis.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-53 口腔扁平上皮癌細胞 Sq1979 由来の液性因子による単球系細胞 MLC-6 を介した免疫抑制機構

○安藤 恵¹, 神谷 真子², 松並 晃弘³, 高山 英次¹, 川木 晴美¹, 梅村 直己¹,
上野 恭平¹, 村松 泰徳³, 住友伸一郎³, 近藤 信夫¹

¹朝日大 歯 口腔生化

²朝日大 営 化学

³朝日大 歯 口外

【緒言】我々は、C3H マウス OSCC 細胞株 Sq1979 が IL-1 α を産生し、in vitro の系において、間葉系細胞を介した免疫抑制機構を促進することを示してきた (Morimoto-Ito H, Open Dent J. 印刷中). 腫瘍組織の間質細胞としては、間葉系細胞以外にもマクロファージが腫瘍の進展を促進する重要な役割を担うことが報告されているが、その詳細なメカニズムは十分には理解されていない. 本研究では、Sq1979 細胞より得られた馴化培地、同系マウスの単球由来細胞である MLC-6、および刺激脾細胞を用いて in vitro の培養系を構築し、OSCC による腫瘍関連マクロファージ (TAM) を介した免疫制御機構について検討を試みた. **【材料・方法】**10% FBS を含む RPMI 培地で Sq1979 細胞を 36 時間培養し、馴化培地 (CM) を採取した. 抗 CD3 抗体刺激脾細胞と、Transwell を用いて MLC-6 細胞を非接触の状態状態で混合培養し、CM 存在下、非存在下における脾細胞の IFN- γ 産生能を、ELISA 法を用いて比較検討した. **【結果・結論】**刺激脾細胞の IFN- γ 産生能は、CM または、MLC-6 それぞれとの混合培養では変化しなかったが、CM 存在下で MLC-6 細胞と混合培養したものは顕著に抑制された. Sq1979 細胞由来の液性因子は、MLC-6 の液性因子と協調または、MLC-6 細胞に新たな免疫抑制因子を誘導し、刺激脾細胞に対する免疫抑制作用を発揮することが推測された. 今後、この CM の影響で引き起こされる MLC-6 の極性変化や、刺激脾細胞との接触状態における MLC-6 の免疫抑制効果についても検討し、液性因子の同定を目指す. **【利益相反】**利益相反状態にはありません.

Immunosuppressive effect of mono nuclear cell, MLC-6, was specifically enhanced by humoral factor (s) from mouse oral squamous cell carcinoma, Sq1979 cells

○Andou M¹, Kamiya M², Takayama E¹, Kawaki H¹, Umemura N¹, Matsunami A³,
Muramatsu Y³, Sumitomo S³, Kondoh N¹, Ueno K¹

¹Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent

²Dept Chem, Asahi Univ Sch Business

³Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent

We have already reported that the immunosuppressive function of mesenchymal cells, 10T1/2, is specifically promoted by IL-1 α secreted by C3H mouse OSCC cell, Sq-1979 (Morimoto-Ito H, Open Dent J, in press). In this study we examined immune-regulatory effects of stromal macrophages among OSCC tissues. In order to examine immune-suppressive effects upon the anti-CD3 antigen stimulated mouse spleen cells, syngeneic mouse mononuclear cell line, MLC-6, were co-cultured using Transwell system in the presence or absence of conditioned medium (CM) from Sq1979 mouse OSCC cells. The IFN- γ -producing capability of the stimulated spleen cells was un-changed in the presence of either MLC-6 cells or CM. However, the IFN- γ -producing capability was significantly reduced in the co-culture of both MLC-cells and CM. Our results demonstrated that humoral factor (s) from Sq1979 cells may stimulate the production of immune-suppressive factor (s) from MLC-6 cells, or collaborate with MLC-6 cell-derived factor (s) prerequisite for the suppression of stimulated spleen cells.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-54 腫瘍内浸潤マクロファージの細胞内代謝は腫瘍の増大に伴い解糖系が亢進する

○梅村 直己, 上野 恭平, 川木 晴美, 高山 英次, 近藤 信夫

朝日大 歯 口腔生化

<目的> Myeloid derived suppressor cells (MDSCs) と tumor associated macrophages (TAMs)は双方とも免疫能を抑制し結果腫瘍が増大すると考えられる重要な免疫抑制細胞群である。しかしながら、それらの細胞群が腫瘍の増大に伴いどのように相互作用し、腫瘍免疫を抑制しているのかは明らかでない。<方法>そこで我々は担癌マウスモデルにおいて腫瘍浸潤マクロファージと脾臓内 MDSCs を比較するため、両細胞群に共通の CD11b +細胞を分取し、担がんマウス腫瘍内 CD11b +細胞と脾臓内 CD11b を腫瘍接種 early stage(14 日目)と late stage (28 日目)にそれぞれ採取し、各々の細胞膜抗原と免疫抑制機能、細胞内代謝がどのように変化しているのかを確認した。<結果と考察>脾臓内 CD11b + cells の分画は分葉核をもつ好中球と楕円形の核を有する単球とが散在する分画で、表面抗原としては Gr-1hiIL-4R α hi の細胞群であった。しかしながら、CD8Tcell の抑制が見られず、分類上においては MDSC like cell (MDSC-LC)であった。一方、腫瘍内 CD11b + cells は多くは類円形の核を持ち、胞体の豊富なマクロファージで多くを占める分画であった、細胞表面抗原は F4/80hi, Gr-1lo, IL-4R α hi であり、early satge において TNF アルファによる CD8 Tcells の抑制が観察できた。そのため腫瘍内 CD11b + cell は分類上 TAMs と考えられた。また early stage と late stage における TAMs の細胞内代謝変化を観察した結果、TAMs は腫瘍増大に伴う解糖系の亢進、メチオニン回路の亢進、グルタミンとグルタミン酸の蓄積が顕著であった。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Intracellular metabolism of tumor-infiltrating macrophages promote glycolytic system with tumor growth

○Umemura N, Ueno K, Kawaki H, Takayama E, Kondoh N

Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch dent

< Objectives > Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) and tumor-associated macrophages (TAMs) are both important key immunosuppressive cell populations that inhibit immunological capacity, resulting in tumor growth. However, it is unclear how those cell populations interact to inhibit tumor immunity associated with tumor growth. < Materials and methods > We isolated common CD11b + cells of both cell populations to compare intratumoral TAMs and intrasplenic MDSCs in a tumor-bearing mouse model. Intratumoral CD11b + cells and intrasplenic CD11b + cells were isolated from tumor-bearing mice at an early stage, 14 days after tumor transplantation, or at a late stage, 28 days after tumor transplantation. We identified the cell membrane antigen, immunosuppressive function and intracellular metabolism of each cell type. < Conclusions > The cell population did not have immunosuppressive function to inhibit CD8 T cells, thus, the cell population was classified as MDSC-like cells (MDSC-LC). Furthermore, intratumoral CD11b + cells in the early stage were confirmed to be the cell population that inhibited CD8 T cells via TNF α . Therefore, we classified this cell population as TAMs. We observed the intracellular metabolic changes of TAMs from the early to late stage, it was clear that intratumoral TAMs showed a marked enhancement in glycolysis along with enhanced tumor growth.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-55 アセトアルデヒドが口腔上皮細胞に及ぼす影響

○宮崎 裕司¹, 星野 都², 金田 朋久³, 西村 学子², 菊池建太郎², 草間 薫²

¹明海大 歯 基礎生物

²明海大 歯 病理

³明海大 歯 口腔外科

これまでの疫学的な調査結果から、アルコール代謝産物であるアセトアルデヒドが発癌のリスクファクターの一つとして認識されている。加えて、アルコールが口腔角化細胞のエピジェネティック変化をもたらすことや口腔内常在菌であるストレプトコッカス属の一部の菌がアルコールを分解してアセトアルデヒドを産生することが報告されており、アルコール/アセトアルデヒドが口腔癌の発症および進展に関与している可能性が推察される。任意の濃度のアセトアルデヒド存在下で口腔正常細胞を培養すると、濃度依存的に悪性転換度が高まること、また、濃度依存的に、かつ経時的に DNA のメチル化が解除されていくことを示唆する結果を得た。次いで、アセトアルデヒド添加培養液と非添加培養液で交互に細胞を培養し、DNA メチル化への影響を調べたところ、アセトアルデヒド存在下で培養し続けた場合に比べ、非添加培養液に交換した細胞ではメチル化の解除が遅くなる傾向にあることが示唆された。加えて、アセトアルデヒドにより、癌遺伝子 (*erbB*, *Myc*) 並びに癌抑制遺伝子 (*p53*, *APC*) の発現量が亢進する結果も得られた。以上の結果より、少量であってもアルコールを摂取し続けると DNA のメチル化解除が生じ、様々な遺伝子の発現亢進を発端とする口腔癌発症の可能性が高まるが、適度な休息期間を設けるとその可能性を抑えることが示唆された。今後もさらなる追求を続け、メチル化解除や癌遺伝子・癌抑制遺伝子の発現亢進メカニズムの解明に向けた取り組みを行う必要がある。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effect of acetaldehyde on oral epithelial cells

○Miyazaki Y¹, Hoshino M², Kaneda T³, Nishimura M², Kikuchi K², Kusama K²

¹Div Basic Biol, Meikai Univ Sch Dent

²Div Pathol, Meikai Univ Sch Dent

³Div Oral Surg, Meikai Univ Sch Dent

The alcohol metabolite acetaldehyde has been recognized as one of the risk factors for carcinogenesis. It has been reported that alcohol induces epigenetic change in oral epithelial cells, and that streptococci resident in the oral cavity metabolize alcohol to produce acetaldehyde. These findings suggest that alcohol/acetaldehyde cause oral cancer. Acetaldehyde has been shown to trigger malignant transformation when incubated with normal oral epithelial cells, and to deregulate DNA methylation in a concentration-dependent manner. This deregulation of DNA methylation is suppressed by acetaldehyde-added/non added exchange incubation. In addition, acetaldehyde enhances the expression of oncogenes and tumor suppressor genes. The present findings suggest that habitual alcohol drinking increases the risk of developing oral cancer, and that an appropriate abstinence period may reduce this possibility.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-56 酸性細胞外 pH 馴化と癌細胞の転移能獲得について

○須藤 周作, 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】癌細胞の細胞外環境が酸性を示すことはよく知られている。これまでに私達は、一過性の酸性細胞外 pH 刺激により、マトリックスメタロプロテアーゼ 9 (MMP-9) の発現が促進されることを見出し、その細胞内シグナルについて明らかにしてきたところ、細胞外からの Ca^{2+} の流入をトリガーとしたホスホリパーゼ D1 の活性化と、続く MAP キナーゼ、NF- β B の活性化の関与を明らかにしてきた。本研究では、恒常的な酸性細胞外 pH の影響について検討した。【方法】低転移性 Lewis 肺癌細胞バリエント (LLCm1 細胞) を用いた。ゼラチン分解活性はゼラチンゼイモグラフィ、遺伝子発現は逆転写後にリアルタイム PCR により測定する RT-qPCR 法にて解析した。遊走能は、引っ掻きアッセイ、浸潤能はマトリゲル[®]を用いる Boyden chamber 法により解析した。転移能は、マウス尾静脈に細胞を注射し、肺のコロニー数をカウントする実験的肺転移モデルにより評価した。動物実験については ARRIVE に従い、奥羽大学の実験動物倫理委員会の承認を得て行った。【結果と考察】pH 6.2 で安定して増殖できるまで、段階的に pH を低下させて継代培養を繰り返し、LLCm1A を樹立した。この細胞は、LLCm1 細胞と比較して、MMP-2, -3, -9, -13 などの発現が亢進しており、migration や *in vitro* での浸潤能も亢進していた。これらの性質変化は、生理的な pH での継代を繰り返しても維持されていた。これらの結果は、原発腫瘍内で生じるがん細胞の不均一性構築に酸性細胞外 pH が関与し、転移性を亢進させ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。

Acidic extracellular pH and acquisition of metastatic phenotype of cancer

○Sutoo S, Maeda T, Suzuki A, Kato Y

Dept Oral Funct Mol Biol, Ohu Univ Sch Dent

[Objective] Extracellular pH (pH_e) is well known to be often acidic. We have shown that acidic pH_e transiently induces MMP-9 production, whose intracellular signaling involves Ca^{2+} -influx-triggered PLD1 activation followed by MAP kinases and NF- β B activation. In this study, we tested effect of acidic pH_e adaptation on tumor metastatic phenotype. [Methods] Low metastatic variant of Lewis lung carcinoma (LLCm1) was adapted to acidic pH_e by serial passage through media of stepwise decreasing pH until pH 6.2 was reached. Gelatinolytic activity was detected by zymography. Gene expression was determined by RT-qPCR. Migration and Matrigel[®] invasion activities were analyzed by scratch and Boyden chamber assays, respectively. Lung metastasis was determined by the experimental metastasis model. All animal experiments were performed in accordance with ARRIVE. The experimental protocols were approved by the Animal Experimental Committee of Ohu University. [Results] LLCm1A cells highly expressed genes encoding MMP-2, -3, -9, and -13 as compared with LLCm1 cells. Migration and invasion activities of LLCm1A cells were also higher than those of LLCm1 cells. These phenotypes stably expressed even after several passages in pH 7.4. These data suggested that acidic pH_e plays a role of formation of heterogeneity in primely tumor tissue and acquisition of metastatic phenotype.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-57 アデノシン A₃アゴニストはミクログリアの活性化と収斂投射を抑制することで神経障害性疼痛を減弱させる

○寺山 隆司

広大院医 顎顔面解剖

末梢神経損傷後の脊髄後角でグリア細胞の活性化とニューロンの過剰な興奮が起こり、これらの変化が神経障害性疼痛の発症や持続に関与していることが示されてきている。神経障害性疼痛の各種動物実験モデルにおいてアデノシン A₃レセプターアゴニスト (A₃AR) の鎮痛効果が認められている。しかしながら A₃AR の鎮痛効果の発現機構についてまだ十分に解明されていない。この研究では脛骨神経損傷後の触覚刺激に対する侵害防御行動、脊髄後角におけるミクログリアの活性化、ならびに脊髄後角二次ニューロンに対する侵害受容一次ニューロンからの収斂投射における A₃AR (IB-MECA) の効果を検討した。行動学的指標による検討において、脛骨神経損傷後 3 日で触覚刺激に対する一時的な低感受性が見られたが、神経損傷後 14 日でアロディニアの状態となった。この神経損傷モデルを用いて神経損傷を行う当日、または神経損傷後 7 日目から 8 日間連続で IB-MECA (0.1 mg/kg/day) を全身投与しその効果を検討したところ、薬剤の投与開始時期に関係なく神経損傷後 14 日で見られるアロディニアが抑制された。またこの薬剤投与によって神経損傷後の脊髄後角におけるミクログリアの活性化、脊髄後角二次ニューロンに対する侵害受容一次ニューロンからの異常な収斂投射が抑制されることが明らかとなった。これらの結果は A₃AR が末梢神経損傷後の脊髄後角におけるミクログリアの活性化ならびに損傷を受けていない一次ニューロンからの脊髄後角二次ニューロンに対する過剰な侵害受容入力を抑制することによって神経障害性疼痛を減弱させてい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。

A₃ adenosine receptor agonist attenuates neuropathic pain by suppressing activation of microglia and convergence of nociceptive inputs in the spinal dorsal horn

○Terayama R

Dept Maxillofac Anat Neurosci, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

The adenosine A₃ receptor (A₃AR) agonists have been shown to have antinociceptive activities in several experimental neuropathic pain models. However, the mechanisms underlying these antinociceptive actions of the A₃AR agonist are still not fully explored. In this study, the effects of the A₃AR agonist (i. e., IB-MECA) on microglial activation, enhancement of convergent nociceptive inputs, and nocifensive behaviors were examined after tibial nerve injury. Injury to the tibial nerve initially caused hyposensitivity to touch stimulus at 3 days, and then resulted in tactile allodynia at 14 days post-injury. The daily systemic administration of IB-MECA (0.1 mg/kg/day) for 8 days in a row starting on the day of nerve injury or 7 days after nerve injury prevented the development of behaviorally assessed hypersensitivities, and spinal microglial activation induced by nerve injury. These treatments also suppressed anomalous convergence of nociceptive primary inputs in the spinal dorsal horn. The present findings indicate that the A₃AR agonist attenuates neuropathic pain states by suppressing enhanced microglial activation, and anomalous convergence of nociceptive inputs in the spinal dorsal horn from uninjured afferents after injury to the peripheral nerve.

Conflict of Interest: The author declares no conflict of interest.

P2-58 Low-density lipoprotein の細胞内への取り込みに依存したホスファチジルエタノールアミンの細胞膜外葉への局在変換は破骨細胞の融合過程に関与する

○羽毛田慈之¹, キタノホセ^{1,2}, 内田 洋子^{1,2}, 林田千代美¹, 佐藤 卓也¹, 嶋田 淳²

¹明海大 歯 口腔解剖, ²明海大 歯 顎顔面口腔外科

細胞外 LDL を認識し細胞内へ取り込む受容体 LDL receptor (LDLR) の欠損マウス (LDLR KO) において, 細胞融合不全から破骨細胞の形成は減少する. 一方, 細胞外の酸化 LDL を認識する受容体 lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) KO マウスでは, 逆に破骨細胞の細胞融合が亢進する. 本研究は, それら受容体の作用機構を分子レベルで解明することを目的とし, LDLR/LOX-1 double KO (dKO) マウスを作製し, *in vitro* の破骨細胞形成系から解析した. その結果, LDLR/LOX-1 dKO は, LDLR KO と同様, 破骨細胞の細胞融合が減少することが明らかとなった. 細胞膜のリン脂質二重層内葉に多く分布する phosphatidylethanolamine (PE) の細胞膜外葉への局在変換が破骨細胞の細胞融合に重要な役割を持つ. そこで, 破骨細胞形成過程における PE の分布を LDLR/LOX-1 dKO および LDLR KO と野生型 (WT) マウスで比較した. WT 破骨細胞系細胞は細胞膜周囲に多数の filopodia を有し, それらを介して隣の破骨細胞系細胞と接触していた. そして, それら filopodia の細胞膜外葉に PE が多く分布していた. しかし, LDLR KO および LDLR/LOX-1 dKO 破骨細胞系細胞では, 細胞膜外葉 PE 分布変換が大きく減少し, その分布変換を触媒する ATP-binding cassette transporter (ABC) G1 の mRNA 発現量も大幅に減少した. 最後に, Abcg1 siRNA で Abcg1 mRNA をノックダウンさせると破骨細胞形成, 破骨細胞サイズおよび融合頻度ともに大きく減少した. 以上のことから, LDL の細胞内への取り込みに依存した PE の細胞膜外葉への局在変換は破骨細胞の融合過程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.

LDL uptake-dependent translocation of phosphatidylethanolamine into outer leaflet of plasma membrane is involved in the cell-cell fusion of osteoclastic cells

○Hakeda Y¹, Kitano Flores VJ^{1,2}, Uchida Y^{1,2}, Hayashida C¹, Sato T¹, Shimada J²

¹Div Oral Anat, Meikai Univ Sch Dent, ²Div Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch Dent

In low-density lipoprotein receptor (LDLR) knockout (KO) mice, the osteoclast formation is decreased because of defect of osteoclastic cell-cell fusion. In contrast, abrogation of lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1), which recognizes oxidized LDL, increases osteoclastogenesis due to promoting cell-cell fusion. However, the molecular roles of these receptors in osteoclastogenesis remain unclear. Thus, we prepared LDLR/LOX-1 double KO (dKO) mice. We present here that the dKO mice decreased osteoclast cell-cell-fusion like LDLR KO mice. Dynamic translocation of phosphatidylethanolamine (PE) into outer leaflet from inner leaflet of plasma membrane has been reported to play a role in osteoclastic cell-cell fusion. Wild-type (WT) osteoclastic cells possessed numerous filopodia connecting to the adjacent cells. In addition, PE was concentrated in the filopodia. The translocation of PE into the outer leaflet was decreased in LDLR/LOX-1 dKO and LDLR KO osteoclastic cells, consistent with the reduction of cell-cell fusion. The mRNA expression of ATP-binding cassette transporter (ABC) G1, which catalyzes the PE translocation, was also attenuated. Finally, the cell size and cell-cell fusion were attenuated by knockdown of ABCG1 mRNA in WT osteoclastic cells. These results suggest that LDL uptake-dependent translocation of phosphatidylethanolamine into outer leaflet of plasma membrane is involved in osteoclastic cell-cell fusion.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-59 卵巣摘出マウスを用いた長骨骨幹端修復過程の解析

○井上 知, 藤川 芳織, 福島美和子, 中村 雅典
昭大 歯 口腔解剖

【目的】骨折は、閉経後の女性において発生率が増加し、その多くが橈骨遠位端に代表される長骨骨幹端で発生する。これまでの骨粗鬆症モデルにおける骨損傷治癒過程の解析は、長骨骨幹端を用いたものが多く、骨幹端の治癒過程については詳細な解析がなされていない。本研究では閉経後の女性を想定し、卵巣摘出 (OVX) マウスを用いて、長骨骨幹端および骨幹部の治癒過程について検討を行った。【材料と方法】雌性 ICR マウスを Sham 群および OVX 群にわけ、手術を行った。8 週後に右脛骨骨幹端および左骨骨幹部にラウンドバーを用いて骨損傷を作製し、術後 1 日から 28 日目の間に試料の採取を行った。仮骨形成をマイクロ CT で解析後、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) 染色) および免疫組織化学 (Gr-1) を行った。【結果】骨幹端では両群とも骨膜性仮骨が形成されていなかった。骨幹部では両群ともに軟骨性仮骨が形成され、その後、硬性仮骨が認められたが、OVX 群では形成量が少なかった。骨髄内仮骨は、骨幹端の Sham 群では 7 日目、OVX 群では 14 日目をピークに形成されていたが、骨幹部では両群とも 14 日目がピークであった。両部位ともに OVX 群では、その形成量は約 1/3 であった。骨髄内の ALP 活性は、Sham 群の骨幹端では 2 日目、骨幹部は 4 日目に認められた。OVX 群では両部位とも 4 日目に反応が認められたが、骨幹部では狭い範囲のみであった。骨髄内の Gr-1 陽性細胞は、Sham 群では 3 日目、OVX 群の骨幹端では 4 日目、骨幹部では 5 日目まで認められた。【考察】本研究の結果から、卵巣摘出が骨修復過程におよぼす影響は、骨形成に関連する細胞だけでなく、炎症細胞の挙動も変化させ、その反応は部位によって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。

Comparison of bone fracture repair process between metaphysis and diaphysis in ovariectomized mice

○Inoue S, Fujikawa K, Fukushima M, Nakamura M
Dept Oral Anat Dev Biol, Showa Univ Sch Dent

In postmenopausal women, the incidence of metaphyseal fracture is significantly increased with age. However, the repair process of metaphysis is still unclear. In this study, we compared repair process between metaphysis and diaphysis of ovariectomized (OVX) and the control mice. At indicated times after the surgery, samples were collected and examined by micro-computed tomography, histological, histochemical and immunohistochemical analysis. The cartilaginous callus was formed at the diaphysis of both group, which was sequentially replaced by bone on the periosteum side. The volume of the callus in OVX was lower than that in sham. Medullary callus was formed in both groups, however, the volume of the callus in OVX was significantly decreased to about 30 percent of the control. In control metaphysis and diaphysis, ALP activity appeared in the bone marrow at day 2 and 4 respectively. In OVX, ALP activity was detected at day 4. ALP activity in diaphysis was weak compared with metaphysis. The disappearance of Gr-1 positive cells was delayed in OVX. These results suggested that the effect of ovariectomy on bone repair process changes not only the bone formation cells but also the behavior of inflammatory cells, and that the response differ depending on bone site.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-60 破骨細胞の骨吸収能に対する β シクロデキストリンホスフェートの影響

○吉川 美弘¹, 津田 進², 堂前 英資¹, 鎌田 愛子¹, 池尾 隆¹

¹大歯大 生化

²大歯大 化学

[目的]骨粗鬆症は骨量が減り、骨の強度が低下する疾患である。ビスホスホネートは骨粗鬆症の代表的な治療薬であるが、顎骨壊死を生じることがあると報告されている。我々は、細胞死を引き起こすことが知られている β シクロデキストリンに着目し、骨接着性のリン酸基が導入された β シクロデキストリンホスフェート(β CDP)を用いることによって、ビスホスホネートとは異なる手法で破骨細胞の機能を調節できないか検討した。[方法]sRANKL存在下で3日間培養したマウスマクロファージ様細胞RAW264.7を、メチル β シクロデキストリン(M β CD)もしくは β CDPを用いて刺激し、さらに1日間培養したのち、TRAP染色を行った。また、あらかじめM β CDもしくは β CDPを用いて修飾したオステオアッセイプレート表面上で、sRANKL存在下RAW264.7を1週間培養し、吸収窩の面積を計測することによって骨吸収能を調べた。[結果]破骨細胞分化誘導による核3個以上のTRAP陽性多核細胞数はM β CD刺激でコントロール群に比べて、濃度依存的に有意に減少した。同様に、 β CDP刺激でもTRAP陽性多核細胞数はコントロール群に比べて、濃度依存的に有意に減少した。また、M β CDを用いて修飾したオステオアッセイプレート表面上でRAW264.7を培養すると、コントロール群に比べて吸収窩の面積に変化は見られなかったが、 β CDPを用いて修飾したオステオアッセイプレート表面上では吸収窩の面積は小さくなった。[結論]以上により、 β CDPは破骨細胞の生存に影響を及ぼし、その機能を抑制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。

Effect of β -cyclodextrin phosphate on the resorption ability of osteoclasts

○Yoshikawa Y¹, Tsuda S², Domae E¹, Kamada A¹, Ikee T¹

¹Dept Biochem, Osaka Dent Univ

²Dept Chem, Osaka Dent Univ

Osteoporosis is characterized by reduction in bone mass and bone strength. Although a bisphosphonate is a typical component of an osteoporosis therapeutic agent, bisphosphonate-related jaw bone necrosis has become a major problem. Therefore, to ameliorate this problem, we focused on β -cyclodextrin, which is known to cause cell death, and used β -cyclodextrin phosphate (β CDP) to examine whether osteoclast function could be regulated. After culturing mouse macrophage-like cells RAW264.7 for 3 days in the presence of sRANKL, β CDP was induced. The cells were further cultured for 1 day and subjected to TRAP staining. To further evaluate bone resorption capacity, β CDP was coated for 24 hours on the surface of the osteoassay plate, following which RAW264.7 were cultured for 1 week in the presence of sRANKL, and the area of the resorption pit was measured. RAW264.7 stimulated with β CDP exhibited significant reduction in the number of TRAP-positive multinucleated cells in a concentration-dependent manner compared to the control group. In addition, when RAW264.7 were cultured on the surface of the β CDP coated osteoassay plate, the area of resorption pits was lesser than that of the control group. These results suggested that β CDP might affect osteoclast survival and inhibit osteoclast function on the bone surface.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-61 二つの骨形成様式における造血機構と骨芽細胞の関連

○馬谷原光織, 藤川 芳織, 中村 雅典

昭大 歯 口腔解剖

【目的】我々はこれまでに、膜性骨化と軟骨内骨化では造血システムが異なることを明らかにしてきた。また、赤血球造血は肝臓や腎臓で産生される Erythropoietin (Epo) によって制御されるが、その他組織における発現も報告されている。本研究では、膜性骨化と軟骨内骨化における初期の造血システムについて、Gr-1 および Ter119 を用いて検索を行うとともに Epo の発現検索を行った。【方法】胎齢 15-18 日、生後 0-7 日齢 BALB/c マウスの下顎骨および下肢を採取し、通法に従いパラフィン切片および凍結包埋切片を作製した。免疫染色により Ter119 および Gr-1 の局在を検索した。In situ hybridization により Erythropoietin の発現局在を検索した。【結果】胎齢 18 日の脛骨では、骨髓腔全体に Gr-1 陽性細胞が多数局在していたが、Ter119 陽性細胞は小さな細胞集団としてわずかに局在するのみであった。7 日齢の脛骨では、Gr-1 陽性細胞および Ter119 陽性細胞のいずれも骨髓腔全体に多数局在していた。一方、2 および 5 日齢の下顎骨骨髓腔内には、Gr-1 陽性細胞および Ter119 陽性細胞のいずれも局在しているが、相対的に Ter119 陽性細胞が多く認められた。胎齢 15 日の脛骨では Bone collar 周囲の細胞が Epo を発現していたが胎齢 18 日においては認められなかった。一方、胎齢 15 日の下顎骨では、骨基質表面の細胞が Epo を発現していた。下顎骨における Epo の発現は胎齢 18 日においても同様に認められた。【結論】Ter119 陽性細胞および Gr-1 陽性細胞の局在より、軟骨内骨化では白血球造血、膜性骨化では赤血球造血が先に開始することが示された。また、下顎骨における Epo の発現が明らかとなり、膜性骨化と軟骨内骨化では Epo が異なる機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。

The relationship between osteoblasts and hematopoiesis in two different ossification

○Mayahara M, Fujikawa K, Nakamura M

Dept Oral Anat Dev Biol, Showa Univ Sch Dent

Background: Bone marrow is the primary site of hematopoiesis after the formation of the bone marrow cavities. Previously, we reported a difference of hematopoiesis systems between intramembranous and endochondral ossification. In this study, we performed to investigate hematopoiesis and expression pattern of Erythropoietin in the bone marrow of two different ossification. Methods: The heads and limbs of BALB/c mice (E15-7dPN) were removed and processed for paraffin section and frozen section. Immunohistochemical staining was performed to examine the localization of Gr-1 and Ter119. Erythropoietin expression was investigated by in situ hybridization. Results: Gr-1 positive cells were detected throughout the bone marrow of E18 tibia, but TER119 positive nucleated cells were barely detectable. In the tibia at P7, Gr-1 positive cells and TER119 positive nucleated cells were detected in the bone marrow. TER119 positive nucleated cells were predominately detected in the bone marrow of the P2, subsequently Gr-1-positive cells were detectable with development. Osteoblasts in the marrow space of E18 tibia expresses no EPO mRNA whereas osteoblasts in mandible expressed Epo mRNA. Conclusions: These results suggested that the expression of EPO might be related to the difference of hematopoiesis in two ossification.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-62 マウスメッケル軟骨前半の消失様式について

○井上貴一郎, 八若 保孝

北大 院歯 小児障害者

【目的】 マウスのメッケル軟骨前半部は、成長中の下顎切歯歯胚の接触により軟骨内骨化様に吸収・消失するように見える。一方、ヒトのメッケル軟骨では歯胚等と接触することなく消失するが、その吸収様式の詳細は明らかにされていない。本研究では、ヒトと同じ様式のメッケル軟骨吸収がマウスでも生じていると仮定し、下顎前歯と接触していない領域付近の観察から、その吸収様式を明らかにすることを目的とした。【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、下顎切歯歯胚の接触によってメッケル軟骨の吸収が始まる E16.5 のマウスを用い、各成長段階で軟骨内骨化に関連するマーカーについて免疫組織化学的に光顕および電顕的に検討した。【結果と考察】 E14 ではメッケル軟骨に変化は認められないが、E14.5 になると前半前方のメッケル軟骨と下顎切歯歯胚が並走する部分で、メッケル軟骨の上縁と下縁に膜性骨が発生する。そして E16 までにその部位のメッケル軟骨は膜性骨で一周取り囲まれる。この部位では軟骨膜細胞が 1 層程度にまで薄くなり、さらに軟骨に膜性骨が直接接している部分も認められた。軟骨膜細胞からは軟骨基質を分解する MMP-9 と血管誘導に関わる VEGF が分泌されていた。E16.5 において、メッケル軟骨と下顎切歯歯胚が接触しはじめると接触面から吸収が始まるが、接触面だけでなくメッケル軟骨の上縁と下縁にも軟骨内骨化様の吸収が認められた。また E16.5 では、続いて吸収される少し後方の軟骨膜でも MMP-9, VEGF が分泌されていたが、その軟骨膜には膜性骨は認められなかった。これらのことから下顎切歯歯胚の接触が無かったと仮定しても、メッケル軟骨は軟骨内骨化様の吸収を呈する可能性があり、軟骨膜に発生した膜性骨は bone collar 様の役割を持つ可能性が推測された。また下顎切歯歯胚の近接による吸収の開始もこの bone collar 様構造が関与している可能性も考えられた。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

On the disappearance style at the anterior half of mouse Meckel's cartilage

○Inoue K, Yawaka Y

Dept Dent Child Disabled Person Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

The purpose of this study is to find out whether the disappearance style of Meckel's cartilage can be seen in mice just as in humans. Using E14 to E16.5 mice, this study carries out an immunohistochemical examination of the markers associated with endochondral ossification at each stage. At E16, membranous bone surrounds the outer periphery of Meckel's cartilage in the area where the mandibular incisor and Meckel cartilage are juxtaposed. The perichondrium at this site becomes extremely thin. In the perichondrium, the secretion of MMP-9 and VEGF is observed. At E16.5, Meckel's cartilage and mandibular incisor begin to contact, and endochondral ossification-like resorption is occurred on the contact surface and the upper and lower edges. In this stage, MMP-9 and VEGF are also secreted in the perichondrium at the next resorbed position (slightly backward), but no membranous bone is found in the perichondrium. Therefore, without contact with the lower incisors, since Meckel's cartilage can cause endochondral ossification-like resorption, there is a possibility that the membranous bone generated in the perichondrium has a bone collar-like role. Also, the initiation of resorption due to the proximity of the mandibular incisor could be related to this bone collar-like structure.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-63 Jansen 型 PTH/PTHrP 受容体変異トランスジェニックマウスの形態および機能異常解析

○下村-黒木 淳子¹, 梨田 智子², 森田 貴雄², 大島 勇人³, 網塚 憲生⁴

¹日歯大新潟 小児歯, ²日歯大新潟 生化

³新潟大 院医歯 硬組織形態, ⁴北大 院歯 硬組織発生

【目的】副甲状腺ホルモン、副甲状腺ホルモン関連ペプチド、及びその受容体 (PTH1R) は骨・軟骨の形成に重要な役割を果たす。今回 PTH1R の点突然変異によって生じる Jansen 型骨幹端軟骨異形成症の骨格異常の分子機構を解明するため、骨細胞特異的に Jansen 型変異 PTH1R を発現するトランスジェニックマウスを作製し、その形態および機能異常解析を行った。【方法】野生型および Jansen 型変異 PTH1R (以下 PTH1R^{H223R}) 遺伝子を、DMP1 promoter/enhancer 配列の下流に組み込み、骨細胞特異的に遺伝子を発現するベクターの構築を行った。その後、マウス頭頂骨から骨系細胞を分離し、これらの遺伝子を強発現させ、免疫染色によりその発現を確認した。さらにこのベクターを用いて DMP1-PTH1R^{H223R} トランスジェニックマウス (胎生 18 日齢, 以下 TG マウス) を作製し、マイクロ CT 画像解析および組織学的解析を行った。【結果と考察】骨系細胞の primary culture での骨細胞特異的に発現するベクターの発現を免疫染色で確認したところ、野生型 PTH1R を導入した細胞では細胞膜上に受容体の発現を認めたが、PTH1R^{H223R} を導入した細胞では細胞膜上への発現が認められなかった。PTH1R^{H223R} 遺伝子が組み込まれた TG マウス胎仔の外観は Control のマウスと比較して四肢が短かった。また、マイクロ CT 画像解析の結果、コントロールマウスと比較し、TG マウスでは頭蓋縫合部周囲骨の骨基質の菲薄化を認めた。さらに、歯胚および周囲組織の組織学的解析を行ったところ、コントロールマウスと比較し、TG マウスでは歯胚周囲歯槽骨の菲薄化を認めた。以上より、PTH1R^{H223R} の機能異常は、野生型 PTH1R と構造上の違い、およびその細胞内局在が異なることに起因すると考えられた。さらに、この機能異常により、*in vivo* において軟骨内及び膜内骨化異常が生じる可能性が示唆された。【会員外共同研究者】山口大学大学院医学系研究科 皮膚科学分野 下村裕教授
【利益相反】利益相反状態にはありません。

Analysis of morphological and functional abnormality in Jansen type PTH/PTHrP receptor-transgenic mice

○Shimomura-Kuroki J¹, Nashida T², Morita T², Ohshima H³, Amizuka N⁴

¹Dept Pediatr Dent, Nippon Dent Univ at Niigata, ²Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

³Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

⁴Dept Deve Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide, and its receptor (PTH1R) play an important role in development of bone and cartilage. In this study, we attempted to examine skeletal abnormalities in Jansen type metaphyseal cartilage dysplasia. The wild-type PTH1R (Wt-PTH1R) or Jansen type PTH1R (PTH1R^{H223R}) gene expression vector was constructed using the promoter of DMP1. These osteocyte-specific expression vectors were transfected into the primary culture of osteocytic cells and performed IIF. The Wt-PTH1R was preferentially localized on their cell surface, while the PTH1R^{H223R} was found throughout their cytoplasm. Further to delineate the function of osteocytes *in vivo*, we attempted to establish transgenic mouse (TG mouse) model using this vector. Control and TG mice embryos were analyzed by microcomputed tomography and histological examination. Compared with control mice, TG mice showed delayed calcification around cranial sutures and the thinning of alveolar bone around tooth germ. Based on these results, functional abnormality of PTH1R^{H223R} appears to be attributed to their abnormal intracellular localization, presumably caused by the altered molecular structures different from Wt-PTH1R. Furthermore, it is suggested that this functional abnormality may cause intrachondral and intramembranous ossification abnormalities *in vivo*.

Conflict of Interest: The authors declare no competing interests.

P2-64 酵素細胞化学と準超薄連続切片を用いた破骨細胞のゴルジ装置の立体復構

○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】破骨細胞のゴルジ装置が核周囲に集積することはよく知られている。しかしながら、その立体形態、特に立体分布については未だ不明な点が多い。我々は NADPase (nicotinamide adenine dinucleotide phosphatase) 染色により破骨細胞のゴルジ装置を準超薄切片上で検出し、さらにコンピューターを使って立体復構することで核周囲におけるゴルジ装置の立体分布を検索した。

【材料と方法】8 週齢雄性ラットを灌流固定して大腿骨遠位端を摘出した。EDTA 脱灰後に厚さ 0.2-0.3 mm 程度の矢状断スライスを切り出し、Smith (1980) の方法に従い NADPase 活性を鉛-硫化アンモニウム法により検出した。脱水、エポン包埋後、骨端板に直接する一次骨梁の超薄切片、および厚さ 0.5 μm の準超薄連続切片を作製し破骨細胞を観察した。立体復構にはフリーソフト ImageJ/Fiji を利用した。

【結果と考察】準超薄切片で認められた核周囲の線状の鉛沈着は、透過電顕によりゴルジ装置に一致することを確認した。準超薄切片の写真上で、核、ゴルジ装置、および波状縁を描出し立体復構を行い、それらの局在や断面像をさまざまな角度から観察した。以上から、破骨細胞のゴルジ装置は、1) ほぼ連続した網状あるいは穴の開いたシート状の形態を呈し、2) 複数の核を一括して取り囲み、3) その内部ではさらに個別に核を区別している、ことが確認された。ゴルジ装置の分布と波状縁の位置についての関連性は特に認められなかった。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Three-dimensional reconstruction of Golgi apparatus of osteoclasts with the use of enzyme cytochemistry and serial semi-thin sections

○Yamamoto T, Hasegawa T, Hongo H, Amizuka N

Dept Dev Biol Hard Tissue Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

This study was conducted to elucidate the three-dimensional structure and distribution of Golgi apparatus in osteoclasts. For this purpose, NADPase (nicotinamide adenine dinucleotide phosphatase) cytochemistry, serial semi-thin sections, and ImageJ/Fiji (computer software) were used.

Distal halves of femora were obtained from eight-week old male Wistar rats and processed for NADPase cytochemistry to visualize the Golgi apparatus in accordance with Smith (1980). Longitudinal, serial semi-thin sections were cut at 0.5 μm thickness, and osteoclasts were photographed in the primary trabeculae. The Golgi apparatus with NADPase activity, nuclei, and ruffled border were manually traced on the photographs and reconstructed with ImageJ /Fiji.

From the reconstructed images the following were confirmed. 1) The Golgi apparatus forms an almost continuous structure with a net-like or porous sheet-like configuration. 2) The Golgi apparatus surrounds all nuclei together. 3) Within the net-like structure a Golgi stack divides nucleus individually. There may be no relationship between the distribution of Golgi apparatus and the position of ruffled border.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P2-65 The effects of chemical chaperone on ER stress on tooth development and regeneration

○Eui-Seon Lee¹, Nirpesh Adhikari¹, Yam Prasad Aryal¹, Tae-Young Kim¹, Chang-Yeol Yeon¹, Hitoshi Yamamoto², Chang-Hyeon An¹, Jae-Kwang Jung¹, Jung-Hong Ha¹, Jae-Young Kim¹

¹Sch Dent, IHBR, Kyungpook Natl Univ

²Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll

Purpose: The unfolded protein response (UPR) with up-regulation of ER chaperones is employed, when there is a detection of accumulation of mis-folded or unfolded proteins in endoplasmic reticulum (ER). 4-Phenylbutyricacid is a chemical chaperone which aids in folding proteins, also in protein trafficking that alleviates the ER stress through transporting proteins from cell to cell. Recently, several studies showed that 4-Phenylbutyricacid performs therapeutic effects in metabolic related-diseases, ER stress-mediated cell death, and genetic disorders caused by mis-folding proteins. However, the precise roles of 4-Phenylbutyricacid responding in tooth developmental stages is ascertained.

Materials and Methods: We examined the developmental effects of 4-Phenylbutyricacid in tooth developmental stages using in vitro organ cultivation and kidney transplantation methods. In addition, we evaluated the regenerative function of 4-Phenylbutyricacid in dental hard tissue regeneration using a pulpal access cavity preparation model system.

Results and Discussion: Altered morphological changes and cellular physiology were examined with histology and immunohistochemistry after employment of various in vitro organ cultivation methods. The obvious changes in cell proliferation, apoptosis and differentiation were examined in dentin and enamel forming tissues. As were examined in the developmental function evaluation, 4-Phenylbutyricacid would facilitate the dental hard tissue formation after the designated period from the pulpal cavity preparation. These results suggest that proper modulation of ER stress might be an important condition for dental hard tissue regeneration.

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

P2-66 Developmental roles of FUSE Binding Protein 1 in tooth development

○Yam Prasad Aryal¹, Nirpesh Adhikari¹, Chang-Hyeon An¹, Seo-Young An¹, Jung-Hong Ha¹, Jae-Kwang Jung¹, Hitoshi Yamamoto², Youngkyun Lee¹, Wern-Joo Sohn³, Jae-Young Kim¹

¹Sch Dent, IHBR, Kyungpook Natl Univ

²Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll

Purpose: Fubp1, regulator of c-Myc transcription factor, is a DNA/RNA binding protein and play an important role in regulation of gene transcription. Recent studies have demonstrated that Fubp1 plays an important role in cellular physiology including proliferation, differentiation and apoptosis, which are important in organogenesis. However, its expression and role in odontogenic tissue is not studied so far. Here, we examined the precise expression patterns and functional study of Fubp1 in tooth development. **Materials and Methods:** In this study, expression patterns of Fubp1 were examined by RT-qPCR and in situ hybridization methods. Functional study was examined with in-vitro organ cultivation through siRNA knockdown system at E14 for 2 days. Moreover, kidney capsule transplantation was performed for 1 week and 3 weeks to check the long term effect of Fubp1 knockdown. Frozen and wax tissue sections were prepared for immunohistochemical staining. The following molecules were stained: Ki67 (Proliferative marker); c-Myc (Transcription regulator marker); Phalloidin, E-Cadherin and ROCK1 (Actin filament rearrangement); NESTIN (Odontoblast and neural crest cell marker). Ground staining and Scanning electron micrograph were performed to check the enamel rod and interrod patterns of renal calcified tooth. **Results and Conclusion:** Fubp1 is broadly expressed in enamel organ and condensed mesenchyme during cap stage of tooth development. Knocking down Fubp1 during in-vitro organ cultivation at E14 for 2 days showed altered morphogenesis with decreased proliferation in mesenchyme but increased proliferation in epithelium with increased apoptosis of epithelial and mesenchymal cells at bell stage. Moreover, qPCR after knocking down of Fubp1 confirmed the altered expression patterns of tooth related signaling molecules including Bmp2, Bmp4, Dspp, Fgf4, B-catenin and Shh. Meanwhile, weak localization pattern of NESTIN in one week and altered enamel rod and interrod patterns in 3 weeks renal calcified tooth was observed in Fubp1 knockdown tooth. Thus, our results suggested that Fubp1, a transcription regulator, modulates cellular proliferation, apoptosis and odontoblast and ameloblast differentiation related gene expression during bell stage of tooth development.

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

P3-01 *Porphyromonas gingivalis* 含有色素を応用した新規抗菌光線力学療法の検討

○吉田 彩佳, 佐々木 悠, 居作 和人, 遠山 歳三, 浜田 信城, 吉野 文彦
神歯大 院歯 口腔科学

【目的】我々は歯周病細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. g*) が産生する色素であるプロトポルフィリン IX (PpIX) を光増感剤に応用した抗菌光線力学療法 (aPDT) の可能性を検討した。

【方法】青色光照射 (BLI) を PpIX に行い, 発光波長を分光蛍光光度計, 生じた活性酸素種 (ROS) は電子スピン共鳴法を用い, また *P. g* の PpIX 定量を発光法にて測定した。培養した *P. g* は $OD_{550} = 0.6$ に調整し BLI 後培養, 増殖活性を検討した。酸化ストレス測定を, 増殖活性と同条件にて CellROX green および DNA Oxidative Damage ELISA kit を用い検討した。

【結果】PpIX の BLI による発光は 703.76 nm がピークであった。PpIX は BLI で光励起し ROS を生成が認められた ($p < 0.0001$)。一重項酸素 (1O_2) の特異的消去剤 L-histidine により 1O_2 生成は有意に抑制された ($p < 0.0001$)。また, *P. g* 懸濁液と PpIX 量は強い正の相関が認められた ($R^2 = 0.835$)。 *P. g* に対する BLI は増殖抑制を示した ($p < 0.001$)。 *P. g* 内酸化ストレスは, ROS 亢進および DNA 酸化障害の有意な増加を認めた ($p < 0.05$)。

【考察】本結果は *P. g* 内に存在する PpIX を介し, BLI により菌体内で 1O_2 が生成され, DNA の酸化ストレス障害による増殖活性抑制を示唆した。抗菌薬使用と比較し aPDT は, 通常耐性菌は極めて発生しにくいと考えられる。よって増加の一途である多剤耐性菌に対し本方法は有効, かつ生体安全性が担保された新たな歯周病治療法となりうる可能性がある。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

The novel antibacterial photodynamic therapy applying the internal pigment of *Porphyromonas gingivalis*

○Yoshida A, Sasaki H, Izukuri K, Toyama T, Hamada N, Yoshino F

Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

Purpose: We investigated the novel antibacterial photodynamic therapy (aPDT) applying *Porphyromonas gingivalis* (*P. g*) internal pigment.

Methods: We determined the aPDT effect of protoporphyrin IX (PpIX) such as internal pigment produced by *P. g* on blue light irradiation (BLI) as follows; emission wavelength, reactive oxygen species (ROS), quantitative analysis of PpIX inside *P. g* BLI was applied to *P. g* adjusted to $OD_{550} = 0.6$ and counted colony forming units. Oxidative stress was examined using CellROX green and DNA Oxidative Damage ELISA kit.

Results & Conclusion: 703.76 nm was the PpIX emission peak by BLI. BLI toward PpIX was produced singlet oxygen (1O_2) and it was significantly suppressed by L-histidine ($p < 0.0001$). A strong positive correlation was observed between the *P. g* suspension and the PpIX amount ($R^2 = 0.835$). BLI toward *P. g* was inhibited proliferation ($p < 0.001$). It was significantly increased 1O_2 and DNA oxidative stress via PpIX photoexcitation in *P. g* ($p < 0.05$). These results were suggested that BLI was produced 1O_2 with PpIX inside *P. g* and as a consequence the suppressing proliferation by oxidative stress. Compared with antimicrobials, aPDT is usually considered not to be extremely occurred to develop resistant bacteria. Therefore, this method may be effective as a novel treatment for periodontal diseases with secured biosafety against multidrug-resistant bacteria.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-02 PGN_0297 (porG) は *Porphyromonas gingivalis* の IX 型分泌機構の必須構成遺伝子である

○内藤真理子, 庄子 幹郎, 中山 浩次

長大 院医歯薬 口腔病原微生物

【目的】 歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* から我々が発見した病原タンパク質分泌機構, 9 型分泌機構 (T9SS) は *Bacteroides* 門のみに存在する分泌機構である. 本分泌機構によってジンジパインをはじめとする多くの病原因子が分泌輸送される. 現在までに多くの遺伝子が T9SS 関連遺伝子として報告されているが, すべてが同定されているかは不明である. そこで網羅的に T9SS 関連遺伝子の探索を試みた.

【方法】 *P. gingivalis* ATCC33277 株から Mariner トランスポゾンを用いることで, 高密度の Tn 挿入変異ライブラリーを作製する. T9SS の欠損株は血液寒天培地上で無色の集落を形成することで検出する. 得られた変異株からトランスポゾン挿入位置を同定する. また新たに検出された T9SS 関連遺伝子については遺伝子の変異株, 相補株を作成, T9SS に必須の遺伝子であるかを検討する.

【結果】 Tn 挿入変異ライブラリーを作製, T9SS の欠損株 702 株を分離した. トランスポゾン挿入位置は Kgp と 54 個の遺伝子に存在していた. 個々の遺伝子の変異株の解析から, PGN_0297 を含む 33 遺伝子を T9SS 関連遺伝子として同定した. また新たに PGN_0297 が T9SS の必須遺伝子であることを明らかにし, porG と名付けた.

【考察】 PorG は T9SS 構成分子 PorK, PorN との結合が報告されていたが, 本研究により T9SS の必須遺伝子であることを明らかにできた. 今回の結果を基に今後 T9SS の個々の構成分子について詳細な解析を行い, T9SS の機能の全容の解明を目指していく. 会員外共同研究者: 富永孝志

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

PGN_0297, porG, an essential component of the type IX secretion system in *Porphyromonas gingivalis*

○Naito M, Shoji M, Nakayama K

Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

The type IX secretion system (T9SS) was originally discovered in *Porphyromonas gingivalis*, one of the pathogenic bacteria associated with periodontal disease and is now known to be present in many members of the phylum *Bacteroidetes*. The T9SS secretes a number of potent virulence factors across the outer membrane in *P. gingivalis*. To understand the entire machinery of T9SS, we performed exhaustive search for T9SS-related genes in *P. gingivalis* using the mariner family transposon (Tn) and Tn-seq analysis. We determined 702 Tn insertion sites in Tn mutants with no colony pigmentation that is associated with Lys-gingipain (Kgp) defectiveness and found that the Tn was inserted in the *kgp* gene and 54 T9SS-related candidate genes. Thirty-three out of the 54 genes were already known as T9SS-related genes. Furthermore, deletion mutant analysis of the remaining 21 genes revealed that they were not related to the T9SS. The 33 T9SS-related genes include a gene for PGN_0297, which was found to be associated with the T9SS components PorK and PorN. We constructed a PGN_0297 gene deletion mutant and found that the mutant lost T9SS activity, indicating that PGN_0297 was an essential component of the T9SS. Then we termed this gene *porG*.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-03 *Porphyromonas. gingivalis* LPS が誘導する糖尿病性腎症の発症と TLR4 阻害剤による効果

○梶原弘一郎¹, 高良 憲洋², 藤田 隆寛¹, 坂上 竜資³, 小島 寛², 沢 禎彦⁴

¹福歯大 成長発達 矯正, ²福歯大 成長発達 障害歯

³福歯大 口腔治療 歯周, ⁴岡大 院医歯薬 口腔機能解剖

糖尿病腎系球体は通常は見られない TLR2/4 を発現する。また *P. gingivalis* LPS 投与糖尿病マウスは TLR 活性化によって腎症を引き起こす。そこで、TLR 阻害剤は糖尿病マウスの *P. gingivalis* LPS 誘導性糖尿病性腎症を予防するかを調べた。*P. gingivalis* LPS および TLR 阻害剤 Eritoran を頬粘膜に同時投与した 1 型糖尿病マウスの血清尿素窒素 (BUN)・クレアチニン (CRE)、糸球体の TLR2/4, TGF- β , I 型コラーゲンおよび TLR2 転写因子 STAT3 の発現を調べた。*P. gingivalis* LPS は TLR2 活性を引き起こすが TLR4 活性はほとんどない (Darveau, ワシントン大学)。*P. gingivalis* LPS 投与糖尿病マウスは *P. gingivalis* LPS 投与健常マウス生存期間内にすべて humane endpoint に達した。Eritoran は *P. gingivalis* LPS 投与糖尿病マウスの生存率を大きく改善しなかったが、BUN, CRE, TLR2, TGF- β , I 型コラーゲンならびに STAT3 発現を減少させ、腎症を改善したことから、糖尿病性腎症には TLR2 と TLR4 の両者が関与すると考えられた。*P. gingivalis* LPS 投与糖尿病マウス末期では極めてフレイルの状態になる。また、*Escherichia coli* LPS は強力な TLR4 リガンドであることから、糖尿病の生体環境での *P. gingivalis* LPS 免疫は腸管免疫を作動させ、腸内細菌が壊れて発生した LPS が腎循環に入り TLR4 を活性化すること、エリトランはこれを抑制するが敗血症のような状態は改善できなかったと考えた。以上より、糖尿病性腎症は歯周病原細菌-TLR2 経路と TLR4 経路を合わせた複雑系で発症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。

Effect of TLR4 inhibitors on *Porphyromonas gingivalis* LPS- induced diabetic nephropathy

○Kajiwara K¹, Takara K², Fujita T¹, Sakagami R³, Kojima H², Sawa Y⁴

¹Div Orthodont, Fukuoka Dent Coll, ²Div Dent Disabled, Fukuoka Dent Coll

³Div Periodontol, Fukuoka Dent Coll, ⁴Dept Oral Funct Anat, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

The present study aims to examine the effect of TLR4 blocking on the suppression of *Porphyromonas gingivalis* LPS (Pg-LPS) -induced diabetic nephropathy. The survival rate and morphological/biochemical features for streptozotocin-induced diabetic mice with Pg-LPS and TLR4 blocker eritoran administration were investigated by reporter gene assay, urine and blood analysis, immunohistochemistry, and real time-PCR. The blood urea nitrogen and creatinine, expression of TLR2 and TGF- β , and type 1 collagen accumulation, in the diabetic mice increased significantly with the Pg-LPS administration. In spite of the limited TLR4 activation with Pg-LPS, the TLR4 blocker eritoran decreased blood urea nitrogen and creatinine, and raised the survival rate of the Pg-LPS-administered diabetic mice slightly. The high expression levels of TLR2, TGF- β , and type 1 collagen in Pg-LPS-administered diabetic mice decreased with eritoran. Nuclear STAT3 which enhances TLR2 expression was detected in the TLR2-expressing glomeruli of diabetic mice. The TLR2 and STAT3 gene expression increased by the Pg-LPS administration but decreased with eritoran. These may suggest that Pg-LPS-induced diabetic nephropathy is mainly dependent on TLR2 signaling on glomerular endothelial cells, and that TLR4 blocker eritoran may play a role to slow the progress of diabetic nephropathy.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-04 歯周病原細菌 *Fusobacterium nucleatum* の骨吸収および歯周組織炎症への関与

○小川 泰宏, 小林 良喜, 河野 哲朗, 岡田 裕之, 落合 智子, 小宮 正道

日大松戸歯 院歯 口腔外科

近年、歯周病原細菌のひとつである *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) が潰瘍性大腸炎や大腸ガンの病原粘膜部位から検出されたとの報告がある。慢性歯周疾患の持続により歯周病原細菌が腸管へ流入することで、腸管細菌叢の変化や腸管粘膜上皮組織への細菌侵入が起これ、炎症が惹起されるとの報告があるが不明な点は多い。本研究は、慢性歯周疾患が口腔免疫系および腸管免疫系の免疫応答に、どのような影響を及ぼしているのかを解明するため、マウスの炎症性歯周組織の免疫反応の検討を行った。*F. nucleatum* を 5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 溶液に懸濁 (1×10^9 /mouse) し、3 週間 (計 15 回) マウスの口腔内接種を行なった。最終口腔内接種から 1 日後および 30 日後に歯肉組織から単核細胞を単離し、蛍光標識抗体を用いてフローサイトメーター法や、DNA を抽出し定量 PCR を行い、Hematoxylin and Eosin (HE) 染色により病理組織学的検討を行った。また、下顎骨を採取して microCT を用いて歯槽骨吸収量の測定を行った。*F. nucleatum* 接種群で歯肉粘膜下に炎症性細胞の浸潤を認め、顕著な歯槽骨の水平的骨吸収を認められた。また、歯肉組織から pro-IL-1, pro-IL18 の発現や、RANKL/OPG の比率が増加していることがリアルタイム PCR により認められた。さらに歯肉炎症巣に CD4 + RANKL + 細胞が継時的に増加していることがフローサイトメトリー法により認められた。これらの結果から、*F. nucleatum* の口腔内接種により、歯肉組織への炎症を惹起し CD4 + RANKL + 細胞を介した破骨細胞を活性化により歯槽骨吸収を生じ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。

Involvement of *Fusobacterium nucleatum* in bone resorption and periodontal tissue inflammation

○Ogawa Y, Kobayashi R, Kono T, Okada H, Ochiai T, Komiya M

Dept Oral Surg, Nihon Univ Sch Dent Matsudo

Periodontal diseases are frequently identified as the source of invasive periodontopathogenic bacterial infection, which is implicated in oral infections, adverse pregnancy outcomes, GI disorders, and various other human diseases. In recent years, increasing evidence has indicated the *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) may promote periodontitis, including severe colitis. However, the presence and activation of mechanisms are remains to be elucidated. In this study, we assessed the characterization of immune cell in inflamed gingival tissue. A murine periodontal disease model with alveolar bone loss was established by oral infection with 10^9 cfu of *F. nucleatum*, which suspended in 0.1 ml of 2% carboxymethylcellulose 15 times over three weeks. Mononuclear cells infiltration was observed in the gingiva of mice infected with *F. nucleatum*, and significant bone resorption was detected when compared with sham infected mice. Further, frequencies of CD4 + T cell expressing RANKL were elevated in inflamed gingival. These results suggested that potential roles of effector CD4 + T cell may cause regulated alveolar bone loss in *F. nucleatum* infection.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-05 紫色 LED 照射によるプラーク菌叢の変動

○南部 隆之¹, 真下 千穂¹, 円山 由郷¹, 吉川 一志², 山本 一世², 沖永 敏則¹

¹大歯大 歯 細菌

²大歯大 歯 歯科保存

【背景】多くの細菌は、細胞内にヘム前駆体としてプロトポルフィリン IX (PpIX) を蓄積している。PpIX は、紫色光 (400~410 nm) の照射を介して殺菌力を有する一重項酸素を発生することから、この系を用いた光線力学的療法が緑膿菌感染症などで検証されている。口腔細菌の一部は、PpIX 依存的に光殺菌されることが知られているが、紫色光の口腔細菌叢への影響は明らかになっていない。そこで本研究では、プラークを用いた *in vitro* 培養系と次世代 DNA シークエンス技術を組み合わせ、紫色光による口腔細菌叢の変動を解析した。【方法】6名の被検者より採取したプラークを滅菌 PBS に懸濁し、嫌気環境にてサンプルを均一化した。12穴プレートに分注後、Aladuck LS-DLED (SBI Pharma) により紫色 LED (ピーク波長 400~410 nm) を 5, 10, 25, 50 J/cm²にて各ウェルに照射した。サンプルを SHI 培地と混合し、嫌気環境で 20 時間振盪培養した。DNA 抽出と 16S rRNA 遺伝子 V3-V4 領域の PCR 増幅の後、次世代シーケンサー MiSeq にて配列解読を行った。得られた配列から CLC Genomics Workbench を用いて operational taxonomic unit (OTU) テーブルを作成し、R スクリプトにて統計解析を行った。【結果】光照射により α 多様性の有意な減少が観察され、プラーク菌叢は光殺菌感受性の異なる細菌群から構成されていることが示唆された。ノンメトリック多次元尺度構成法より光照射強度依存的に有意に β 多様性が変化することが明らかとなった。また、OTU レベルでの変動解析では、歯周病関連菌の減少など多くの有意な変動が確認された。現在、光線力学的療法による口腔細菌叢改変の可能性について検証を進めている。(会員外共同研究者：王丹)

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Irradiation of purple LED modulates a multispecies oral bacterial community

○Nambu T¹, Mashimo C¹, Maruyama H¹, Yoshikawa K², Yamamoto K², Okinaga T¹

¹Dept Bacteriol, Osaka Dent Univ

²Dept Oper Dent, Osaka Dent Univ

Many bacteria possess protoporphyrin IX (PpIX) as a heme precursor. Because PpIX generates singlet oxygen with bactericidal activity through irradiation with purple light (400 to 410 nm), photodynamic therapy using this mechanism has been verified in *Pseudomonas aeruginosa* infections. Although some oral bacteria are also known to be photokilled in a PpIX-dependent manner, the effect of purple light on the oral microbiota has not been elucidated. In this study, we examined microbial community response to purple light using *in vitro* culture system and deep sequencing of 16S rRNA. Purple light-irradiated dental plaque samples were cultured anaerobically in SHI medium for 20 hr. The identification and comparison of microbial communities were evaluated by the Illumina MiSeq platform of the V3/V4 region of the 16S rRNA gene. A significant decrease of alpha diversity was observed depending on the light irradiation, suggesting that the plaque microbiota is composed of bacteria groups with different bactericidal susceptibility to purple light. Non-metric multidimensional scaling revealed that beta diversity varied significantly depending on an irradiated light intensity. Moreover, many significant changes, such as the inhibitory effect on periodontal pathogens, were confirmed at the operational taxonomic unit level.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-06 歯周炎を誘発する T 細胞抗原エピートープの同定

○成田 由香, 永尾 潤一, 有田 (森岡) 健一, 田崎 園子, 安松香奈江, 長 環,
田中 芳彦

福歯大 機能生物化学 感染生物

歯周病は口腔細菌の複合感染により引き起こされる慢性感染症であり、歯周病の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は歯周病感染に抵抗性であること、その病態に T 細胞による免疫応答が関与することが報告されている。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 T 細胞の分化に対する抗原性に着目し、包括的に解析した研究は見当たらない。そこで、重度歯周炎患者に特徴的に検出され、Red Complex として分類される歯周病細菌 3 種 *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* ならびに *Treponema denticola* の全てを研究対象とし、ゲノムシーケンスが決定されている株を用いて、サイトカインの産生を指標としたヘルパー T 細胞 Th17 の分化への影響を包括的な解析を行った。抗原の同定に用いる分画成分は、各 Red complex 細菌を培養後、菌体のビーズ破砕および培養上清の超遠心分離により回収した。分画した菌体成分を用いて骨髄由来樹状細胞に抗原提示させ、マウスより単離した CD4⁺T 細胞のヘルパー T 細胞サブセット Th17 細胞への分化誘導をサイトカイン IL-17A 産生を指標に評価した。Red complex 細菌群全てを対象に、歯周病の誘発に関わる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 T-cell epitope of periodontal bacteria inducing periodontitis in mice

○Narita Y, Nagao J, Arita-Morioka K, Tasaki S, Yasumatsu K, Cho T, Tanaka Y

Div Infect Biol, Dept Funct Biosci, Fukuoka Dent Coll

Periodontal disease is a chronic immunoinflammatory disease caused by polymicrobial infection, and immune response contributes to their onset and progression. T-helper cell deficient mice are resistant to periodontal infections, and immune response of T cells contribute to its clinical condition. It is known that T-helper cells exist in the oral cavity of periodontal disease patients, and periodontal pathogens themselves are considered as antigens in T-helper cell differentiation. However, there is a little known about T-cell epitope of periodontal bacteria inducing immune response of T-helper cells. Therefore, we conducted a comprehensive analysis how Red complex bacteria, such as *Porphyromonas gingivalis*, *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 T-cell epitope candidates for inducing T-helper cell subset in periodontal immunopathogenesis.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-07 *Mycoplasma salivarium* 株間の CRISPR 配列比較

○下山 佑¹, 石河 太知¹, 古玉 芳豊¹, 木村 重信², 佐々木 実¹

¹岩医大 歯 分子微生物

²関西女短大 歯科衛生

マイコプラズマ属は自己増殖能を有する極小の細菌であり, このうち 16 菌種がヒトから検出される. このうちヒト口腔においては *Mycoplasma salivarium* が最も検出頻度が高く, 白板症の上皮細胞内にも局在することが明らかにされている. *M. salivarium* ATCC23064 株の shotgun genome sequence では Cas1, Cas2 および Cas9 遺伝子が認められることから clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR)/CRISPR-associated (Cas) システムを有することが推察されるが, これまでのところ *M. salivarium* ATCC23064 株の shotgun genome sequence データベースでは CRISPR 配列は示されていない. そこで本研究では, *M. salivarium* における CRISPR/Cas system の存在を明らかにすることを目的として, *M. salivarium* ATCC23064 株の Cas1, Cas9 の間に存在する塩基配列を増幅し, DNA シーケンスにより解析した. また, 他の *M. salivarium* 4 株についても同様に解析しそれぞれの塩基配列を比較検討した. その結果, *M. salivarium* ATCC23064 株において Cas1, Cas9 の間に約 1800 bp の塩基配列が検出され, それは 36 bp からなる 28 個の繰り返し配列および 30 bp のスペーサー配列を含むことから CRISPR の存在が認められた. また, 他の 4 株についても類似の塩基配列が存在することが明らかとなった. さらに, これら 5 株は, CRISPR 塩基配列の相同性から 2 つのグループに分けられた. (会員外共同研究者 水城春美)

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Comparison of CRISPR sequences among five *Mycoplasma salivarium* strains

○Shimoyama Y¹, Ishikawa T¹, Kodama Y¹, Kimura S², Sasaki M¹

¹Div Mol Microbiol, Iwate Med Univ

²Dept Dent Hygiene, Kansai Women's Coll

Genus *Mycoplasma* is the smallest free-living bacteria capable of self-replication. There are 16 species of *Mycoplasma* that are known to inhabit in humans. *Mycoplasma salivarium* is the most frequently isolated *Mycoplasma* species from oral cavity. On the other hand, *M. salivarium* survives and replicates within the epithelial cells of oral leukoplakia. Nearly half of all bacteria possess a clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR)/CRISPR-associated (Cas) system, which is an RNA-mediated adaptive immune system that functions against mobile genetic elements in bacteria, archaea, and phages. Cas1, Cas2, and Cas9 genes are found in the *M. salivarium* ATCC 23064 whole genome sequence; however, the CRISPR sequence is not registered in the NCBI database. Here, we initially identified the sequence located between the Cas1 and Cas9 in *M. salivarium* ATCC23064 by sequencing the polymerase chain reaction amplification products (1800 bp). The sequence of the other four *M. salivarium* strains were identified as well as previously mentioned. Our results indicated that CRISPR sequences contain 28 direct repetitive sequences (36 bp) and unique spacer sequences (30 bp) in *M. salivarium* ATCC23064 and the other four strains. In addition, these five strains were divided into two groups based on sequence similarity.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-08 ロングリードシーケンサーを用いた初期付着プラークの構成細菌の同定

○竹下 徹^{1,2}, 影山 伸哉¹, 朝川美加李¹, 柴田 幸江¹, 山下 喜久¹

¹九大 院歯 口腔予防

²九大 院歯 OBT 研究セ

【目的】 デンタルプラークの形成と成熟は唾液中に浮遊する細菌種の一部の菌面に形成されたペリクルへの付着からはじまる。本研究では第三世代ロングリードシーケンサーを用いた 16S rRNA 遺伝子全長解析により初期付着プラークの構成細菌を正確かつ詳細に決定した。【方法】 若年成人 74 名にハイドロキシアパタイトディスクの口腔内への設置を依頼し、6 時間経過後に付着したプラークとともに回収した。各検体から DNA を抽出したのち、PCR 法を用いて細菌 16S rRNA 遺伝子全長を網羅的に回収した。各断片の塩基配列をロングリードシーケンサーである PacBio Sequel を用いて解読し、circular consensus sequence 法を用いて高精度配列を取得した。【結果】 PacBio Sequel を用いた解読により 100,109 リードの高精度 16S rRNA 遺伝子全長配列が得られ、それらは 90 の口腔細菌種に割り振られた。そのうち最大構成比率が 10% を超える 21 菌種がどの被験者でも初期プラークの大勢を占めており、*Streptococcus mitis* をはじめとする *Streptococcus* 属の菌種のみならず、*Neisseria* 属や *Rothia* 属等の菌種も含まれていた。さらにう蝕経験歯数の多い者では初期プラークを構成する総細菌数が有意に多かった。一方でう蝕経験の多寡と関連する細菌構成パターンは認められなかった。【考察】 本研究により、若年成人の初期プラークの形成に関与する主要な細菌種が同定された。う蝕の発症には初期付着細菌の種類よりもその後の成熟過程が関連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。

Identification of initial colonizing bacteria in dental plaques from young adults using full-length 16S rRNA gene sequencing

○Takeshita T^{1,2}, Kageyama S¹, Asakawa M¹, Shibata Y¹, Yamashita Y¹

¹Sect Prev Public Health Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

²OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Selective attachment of bacteria in saliva to the tooth surface is an initial and repetitive phase in dental plaque development. This study determined the bacterial composition during early plaque formation in 74 young adults accurately and in detail, using full-length 16S rRNA gene sequence analysis with a high taxonomic resolution using a third-generation sequencer. By using Pacbio Sequel, 100,109 high-quality full-length 16S rRNA gene sequence reads were obtained from the early plaque microbiota, and they were assigned to 90 oral bacterial taxa. The microbiota obtained from every individual mostly comprised of the 21 predominant taxa with the maximum relative abundance of over 10%, which included *Streptococcus* species as well as non-streptococcal species. Although the total bacteria amounts were higher in the subjects with more than 7 caries-experienced teeth than those with no and a low number of caries-experienced teeth, we could not find notable variations in the community structures associated with the dental caries status. Our results revealed the bacterial taxa primarily involved in early plaque formation on hydroxyapatite disks in young adults.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-09 う蝕原性細菌と歯周病原細菌に対する脂肪酸塩による殺菌効果

○倉橋 絢子, 渡辺 清子, 佐藤 武則, 佐々木 悠, 浜田 信城
神歯大 院歯 口腔科学

【目的】石けんは、脂肪酸から作られているが、これまでに口腔内細菌に対する抗菌活性についてあまり報告されていない。本研究では石けんの成分である脂肪酸塩を用いて、口腔内細菌に対する抗菌活性を検討した。【方法】9種類の細菌 (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces naeslundii*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Lactobacillus casei*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Streptococcus mutans*) と *Candida albicans* を用いて、脂肪酸塩 (C4K, C6K, C8K, C10K, C12K, C14K, C18:1K, C18:2K, C18:3K) に対する抗菌活性を検討した。ディスク拡散法は、一昼夜培養菌液を平板培地に塗抹後、各種脂肪酸塩を含むろ紙 (直径 5 mm) を培地上に配置し、発育阻止円の直径を測定した。最小致死濃度 (MBC) は、培地を用いて脂肪酸塩を2倍階段希釈し、 1×10^7 cfu/ml の菌液を添加後、培養し、発育の有無により判定した。さらに、菌液に対して脂肪酸塩を 5, 15, 60 分間作用後の生菌数を測定し、作用時間に対する殺菌効果を判定した。【結果と考察】ディスク拡散法による C12K, C18:2K, C18:3K の口腔内細菌に対する殺菌作用は、極めて高く、MBC 法では 1.37 mM 以下の濃度で殺菌された。しかしながら、*C. albicans*, *E. coli*, *S. aureus* に対する殺菌効果は弱いものであった。以上の結果から、天然成分である石けんの脂肪酸 C12K, C18:2K, C18:3K は、う蝕および歯周病を改善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。

Bactericidal effect of fatty acid salts on cariogenic and periodontopathic bacteria

○Kurahashi Y, Watanabe K, Sato T, Sasaki H, Hamada N
Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

Natural soap is consisted of sodium or potassium salts of fatty acids. The antibacterial activity of soap against oral bacteria has not been well known. Therefore, we examined the antibacterial activity of fatty acid salts against oral microorganisms. We used ten species of microorganism (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces naeslundii*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Lactobacillus casei*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*) and nine kinds of fatty acid salts (C4K, C6K, C8K, C10K, C12K, C14K, C18:1K, C18:2K, C18:3K). The antibacterial activity was examined by disk diffusion test and minimum bactericidal concentration (MBC). Moreover, a number of colony forming units were examined after treatment with fatty acid salts for 5, 15, 60 minutes. C12K, C18:2K, C18:3K showed high antibacterial activity against all oral bacteria and killed them at 1.37 mM. However, C12K, C18:2K, C18:3K showed less antibacterial activity against *C. albicans*, *E. coli*, *S. aureus*. These results suggest that the fatty acid salts may be useful for preventing dental caries and periodontal disease and improving oral health.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interests.

P3-10 健常学生の鼻腔における *Staphylococcus aureus* の保有状況

○桑原 紀子, 齋藤 真規, 瀧澤 智美, 小林 良喜, 落合 智子

日大松戸歯 感染免疫

Staphylococcus 属菌は自然環境に広く分布しており, 代表的な *Staphylococcus* 属菌である *Staphylococcus aureus* はヒトの皮膚, 腸管, 泌尿生殖器および鼻腔粘膜に常在微生物菌として存在する. 今回, 健常学生の鼻腔における *S. aureus* の分布を検索したので報告する.

試料は歯学部学生 260 名の鼻腔を滅菌綿棒で全体を拭って採取した. 滅菌 PBS に浸して攪拌した後, ブドウ球菌用選択培地 No.110 にて分離培養を行った. 培養後, 黄色を呈したコロニーを選択分離し, *Staphylococcus* 属の菌種を同定するため特異的プライマーを使用した multiplex PCR を行った. PCR にて *S. aureus* と同定された分離株についてコアグララーゼ産生能, マンニット分解能, DNase 産生能の各試験およびメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の確認試験としてオキサシリンに対する薬剤感受性試験を行った. ブドウ球菌培地にはすべての検体からコロニーが形成されたが, 黄色を呈するコロニーを形成したのは 25.4% (66/260) であった. PCR による確認試験の結果 *S. aureus* と同定されたのは 16.9% (44/260) であった. *S. aureus* と同定された 44 株においてマンニット分解能, DNase 産生能, コアグララーゼ産生能はすべて陽性を示し, オキサシリンに対する薬剤感受性試験ではすべて感受性であった. 今回 MRSA は検出されなかったが *S. aureus* は多剤耐性を獲得しやすいとされているため, 未来の医療従事者として感染予防に努める意識を持つ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.

Distribution of *Staphylococcus aureus* from the mucous membrane of nose in healthy students

○Kawahara N, Saito M, Takizawa T, Kobayashi R, Ochiai T

Dept Microbiol, Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

One of the genus *staphylococcus*, *Staphylococcus aureus* is known to as normal inhabitants of human skin, gut, urogenital system, and mucous membrane of nose. In this study, nasal samples of human were examined for the present ratio of *S. aureus*, and incidence of methicillin-resistant *S. aureus*. The nasal samples were taken with sterile cotton swab from 266 healthy students. Yellow-color-formed colonies on the staphylococcus selective medium No.110 were isolated and subjected to multiplex PCR for species identification of staphylococci. The *S. aureus* strains were tested the characteristics of production of coagulase and DNase, and the ability to use of mannitol and to resist the oxacillin. Genus *Staphylococcus* was detected on of all students (100%), the carrier rate of yellow-color-formed colony was found in 66 of 260 (25.4%). Among these 66 strains, *S. aureus* identified by multiplex PCR for staphylococci were 44 (44/260, 16.9%). These all 44 strains were coagulase-positive, DNase-positive, mannitol-positive staphylococci, and oxacillin-sensitive *S. aureus*. No MRSA was detected in this study, however, *S. aureus* is easy to acquire multi-drug resistances. It is necessary to effort the prevention of infection.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-11 口腔内における溶血性 *Gemella* と歯周病細菌 *P. gingivalis* の関連性

○三好 智博¹, 吉成 伸夫², 吉田 明弘¹

¹松歯大 口腔細菌

²松歯大 保存

溶血活性を持つ細菌は、ヒト感染症との関連性が数多く報告されており、A群溶血性レンサ球菌は、炎症性化膿性疾患や劇症型感染症を引き起こす原因菌であり、血流を介して全身に到達することで多臓器不全を引き起こすことが知られている。今回我々は、唾液中に強い溶血活性を示す細菌が多く存在していることを確認した。しかし、この細菌の特性は、ほとんど明らかになっていない。本研究の目的は、溶血性細菌の特性を調べ、歯周疾患との関連性を明らかにすることである。歯周病患者と健常者の唾液サンプルを血液寒天培地に塗布し、溶血帯を解析したところ、歯周病患者だけでなく、健常者からも同様に多くの強い溶血性を持つ細菌が分離された。これらの細菌種を同定した結果、溶血性を示す細菌の多くが *Gemella* 属であることが明らかとなった。そのうち、*G. sanguinis*, *G. haemolysans*, *G. morbillorum* の3種が同定された。これらの *Gemella* 属の割合を歯周病患者と健常者と比較したところ、健常者で *G. haemolysans* が有意に高いことが示された。さらに、*G. haemolysans* の歯周病病原菌である *Porphyromonas gingivalis* に対する直接的な影響を調べた結果、*G. haemolysans* は、*P. gingivalis* の生育を阻害することが明らかとなった。健常者の唾液中には、*G. haemolysans* の割合が高いことから、健常者の口腔内細菌の生育に影響を及ぼしている可能性が考えられた。実際に我々は、*G. haemolysans* が *P. gingivalis* の生育を直接的に阻害することを明らかにした。以上の結果から、*G. haemolysans* の増殖により、*P. gingivalis* の生育を抑制して健康な口腔内環境を維持する

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Relationship between hemolytic *Gemella* and *P. gingivalis* in the oral cavity

○Miyoshi T¹, Yoshinari N², Yoshida A¹

¹Dept Oral Microbiol, Matsumoto Dent Univ

²Dept Perio, Matsumoto Dent Univ

A number of bacteria with hemolytic activity to degrade erythrocytes have been reported for serious human infections. However, the characteristics of hemolytic bacteria in saliva have been largely unknown. The purpose of this study is to investigate the characteristics of hemolytic bacteria and clarify the relationship with periodontal disease. Determination of the number of hemolytic bacteria involved by inoculating saliva on blood agar medium showed that not only periodontitis patients but also healthy subjects had many strong hemolytic bacteria in saliva. Strain identification using 16S rRNA indicated that many of the hemolytic bacteria in saliva are *Gemella*, and we identified three species of these bacteria, *G. sanguinis*, *G. haemolysans* and *G. morbillorum*. In addition, quantitative PCR analysis showed that *G. haemolysans* was significantly higher in saliva of healthy subjects than in that of periodontitis patients. Furthermore, an experiment of competitive growth inhibition to investigate the relationship between *G. haemolysans* and periodontal-pathogenic bacteria indicated that *G. haemolysans* directly inhibited the growth of *P. gingivalis*. In summary, these results suggest that *G. haemolysans* is an important bacterial species for keeping a healthy oral environment.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-12 頭頸部放射線療法後患者におけるグルコン酸クロルヘキシジン、プロポリス、カレーリーフ、またはターメリック含有口腔保湿ジェルの効果

○中尾 龍馬¹, 平山 悟¹, 泉福 英信¹, 上野 尚雄²

¹感染研 細菌 1

²がん研究セ 中央病院 歯科

【目的】 頭頸部放射線照射後のがん患者において、抗菌性を示す食品などが含有された5つの異なる口腔保湿ジェルの使用による効果を、二重盲検比較試験により調べた。**【方法】** 国立がん研究センター中央病院歯科を受診した頭頸部放射線療法後のがん患者27名を以下の5群に分け、異なる口腔保湿ジェルの約1ヶ月間の自己使用の効果を調べた。プラセボ群(1%エタノール)、グルコン酸クロルヘキシジン群(CHX)、カレーリーフ群(ハーブ)、プロポリス群(ミツバチ産品)、ターメリック群(スパイス)。介入前後で唾液と喀痰を回収し、歯周病原細菌5種、日和見菌4種の定量をリアルタイムPCRで行なった。また問診と口腔内診査を行い、放射線照射後の口腔に関する愁訴および口腔に生ずる合併症について評価を行なった。**【結果と考察】** 唾液中の *Porphyromonas gingivalis* 菌数は、プロポリス群でのみ減少した ($P \leq 0.05$)。CHX群においては、唾液中の *Fusobacterium nucleatum* と *Tannerella forsythia* 菌数が増加した ($P \leq 0.05$)。また、ジェルの種類にかかわらず、唾液および喀痰中の *Candida albicans* 菌数は減少した ($P \leq 0.0001$)。口腔粘膜に疼痛を有しプロポリスジェルを使用した4人全ての被験者において疼痛が緩和されたが、統計学的な有意差は認められなかった。ジェルの種類にかかわらず、口腔保湿ジェルの使用により口腔粘膜乾燥感は緩和された ($P \leq 0.01$)。以上、口腔保湿ジェル、特にプロポリス入りのジェルを頭頸部放射線療法後のがん患者の口腔粘膜に塗布することにより、口腔乾燥、口腔粘膜炎、口腔感染症等の放射線照射後の合併症を改善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。

Effect of oral moisturizing gel with chlorhexidine, propolis, curry leaf, or turmeric in patients following head and neck radiotherapy

○Nakao R¹, Hirayama S¹, Senpuku H¹, Ueno T²

¹Dept Bacteriol I, Natl Inst Infect Dis

²Dept Dent, Natl Cancer Res Cent Hosp

Purpose: To examine the effect of five oral moisturizing gels containing different ingredients with antibacterial activity in a double-blind, controlled clinical trial. **Materials and Methods:** Twenty-seven subjects who received radiotherapy to head and neck area were randomly allocated to the following treatments: placebo (1% ethanol), chlorhexidine, curry leaf (an herbal product), propolis (a honey bee product), and turmeric (a spice). Saliva and sputum samples were analyzed to quantify the number of five periodontopathic bacteria and four opportunistic pathogens by real-time PCR. Subjective and objective symptoms in oral cavity were also evaluated. **Results & Conclusion:** The number of *Porphyromonas gingivalis* in saliva significantly decreased by treatment with propolis gel, but not by any other treatments. Surprisingly, chlorhexidine gel treatment resulted in the increased burdens of *Fusobacterium nucleatum* and *Tannerella forsythia* in saliva at a statistically significant level. Regardless of treatment group, the burden of *Candida albicans* in both saliva and sputum decreased by use of oral moisturizing gel. Oral pain was relieved by propolis gel treatment in all four subjects who had any pain at the baseline. We propose that the use of propolis gel would give benefit to patients by reducing radiotherapy-related complications occurring in oral cavity.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-13 *Streptococcus pneumoniae* は種特異的なタンパク質 PfbA により過剰な免疫応答を伴う宿主の死亡を抑制する

○山口 雅也¹, 広瀬雄二郎¹, 竹村 萌¹, 大野 誠之¹, 住友 倫子¹, 中田 匡宣¹,
寺尾 豊², 川端 重忠¹

¹阪大 院歯 口腔細菌, ²新潟大 院医歯 微生物

Streptococcus pneumoniae は、健常な小児の口腔から分離される一方で、肺炎や敗血症の主たる原因菌としても知られている。これまでに我々は、*S. pneumoniae* の菌体表層に局在するタンパク質 PfbA に着目し、 β -ヘリックスと呼ばれる立体構造をとること、ならびに細胞外マトリックスを構成するタンパク質と結合することで宿主上皮細胞への付着・侵入因子として働くことを明らかにしてきた。本研究では、PfbA の分子系統関係とマウス感染モデルにおける病原性に果たす役割を解析した。*pfba* 遺伝子について、ゲノムデータベースを用いて BLAST による相同性検索を行った。得られた相同性を持つ遺伝子群について、ベイズ法ならびに最尤法に基づく分子系統解析を行ったところ、*pfba* 遺伝子が mitis 群レンサ球菌において *S. pneumoniae* 特異的に分布していることが示された。次に、*S. pneumoniae* TIGR4 株の野生株と *pfba* 遺伝子欠失株を用いて好中球による殺菌におよぼす TLR2/4 の阻害ペプチド試験の影響を検討した。その結果、*pfba* 欠失株の生存率は阻害ペプチド添加により有意に増加するが、野生株では変化が認められなかった。さらに、TLR2 もしくは TLR4 シグナルの最下流に分泌型アルカリホスファターゼ遺伝子を組込んだ HEK293 細胞を用いてレポーターアッセイを行った。その結果、PfbA が TLR2 を介して NF- κ B を活性化することが示唆された。また、CD-1 マウスを用いて経静脈感染を行ったところ、*pfba* 欠失株感染群は野生株感染群と比較して、有意に高い致死率ならびに血清中の TNF- α 量を示した。一方で、両群の血中と脳内における菌数に有意差は無く、肺および肝臓における菌数は、*pfba* 欠失株感染群で有意に低かった。これらの結果から、*S. pneumoniae* は種特異的なタンパク質 PfbA を介して、過剰な免疫応答による宿主の死亡を抑制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。

Streptococcus pneumoniae limits host mortality through species-specific protein PfbA

○Yamaguchi M¹, Hirose Y¹, Takemura M¹, Ono M¹, Sumitomo T¹, Nakata M¹, Terao Y²,
Kawabata S¹

¹Dept Oral Mol Microbiol, Osaka Univ, Grad Sch Dent

²Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Streptococcus pneumoniae is both a commensal bacterium and a leading cause of community-acquired pneumonia. It often evades host immunity and causes systemic diseases, including sepsis and meningitis. Previously, we reported that PfbA is a β -helical cell surface protein and work as pneumococcal adhesin and invasin to human epithelial cells. Here, we investigated the role of PfbA in pneumococcal pathogenesis. Phylogenetic analysis indicated that the *pfba* gene is specific to *S. pneumoniae* within the mitis group. Our *in vitro* assays showed that PfbA inhibits neutrophil phagocytosis, leading to pneumococcal survival. We found that TLR2/4 inhibitor peptide treatment of neutrophils enhanced the survival of the *S. pneumoniae* Δ *pfba* strain as compared to a control peptide treatment, whereas the treatment did not affect survival of a wild-type strain. In addition, HEK293 secreted alkaline phosphatase reporter assay indicated that PfbA activates NF- κ B through TLR2, but not TLR4. In a mouse sepsis model, the Δ *pfba* strain demonstrated significantly increased host mortality and TNF- α levels in plasma, but showed reduced bacterial burden in lung and liver. These results indicate that pneumococcal specific PfbA may contribute to the bacterial success by inhibiting host cell phagocytosis, excess inflammation, and mortality.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-14 温度感受性転写因子の翻訳効率に依存する化膿レンサ球菌の線毛発現

○中田 匡宣, 住友 倫子, 川端 重忠

阪大 院歯 口腔細菌

化膿レンサ球菌は血清型依存性に多様な線毛を産生する。これまで、M49型の菌株における温度感受性の線毛遺伝子発現が報告されてきたが、詳細な発現調節機構は不明であった。17種の血清型に属する80株の臨床分離株について、通常の培養温度である37℃と感染部位の皮膚・上気道温度を反映する25℃で培養し、線毛産生量を検討した。その結果、転写因子Nraを有する菌株においてのみ、37℃で線毛は検出されず、25℃においてのみ線毛産生が認められた。M49型菌株を親株として作製した*nra*欠失株とコンディショナル*nra*発現株、ならびに*Lactococcus lactis*での線毛関連遺伝子群および*nra*の発現系を用いた解析により、Nraは線毛関連遺伝子群に対する正の転写因子であり、細胞内でのNraタンパク質量が温度感受性の線毛発現に重要であることが明らかになった。培養温度の低下により、*nra*のmRNA量に有意な差が認められなかった一方、Nra検出量は増加したことから、培養温度の変化は*nra*転写後の翻訳効率に影響を与えることが示唆された。*nra*mRNA 5'領域の予測構造から、翻訳領域に位置する推定ステムループ構造に着目し、ステムループ構造を融解させるサイレント変異を染色体DNAに導入した菌株を作製した。変異により、Nraタンパク質および線毛の検出量が減少したことから、*nra*mRNA構造に起因する温度依存性の*nra*翻訳調節が線毛関連遺伝子群の発現に関与し、*nra*を有する化膿レンサ球菌のヒト組織内での適応性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。

Production of group A streptococcal pili reliant on translational efficiency of thermosensitive regulator

○Nakata M, Sumitomo T, Kawabata S

Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Streptococcus pyogenes produces a wide variety of pili in a serotype-dependent manner. Previously, the temperature-dependent expression of pilus genes has been reported in a M49 strain. However, the exact mechanism remains elusive. Herein, pilus expression analysis of 80 clinical isolates covering 17 serotypes revealed that strains with *nra* encoding a transcriptional regulator exhibited temperature-dependent pilus production. Data obtained for *nra* deletion and conditional *nra*-expressing strains in the background of a M49 strain and the *Lactococcus lactis* heterologous expression system confirmed that Nra is a positive regulator of pilus genes and highlighted the significance of intracellular Nra levels in the thermoregulation of pilus production. While the *nra* mRNA level was not significantly influenced by a temperature shift, Nra levels were concomitantly increased when the culture temperature was decreased. Intriguingly, a putative stem loop structure within the coding region of *nra* mRNA determined the post-transcriptional efficiency of *nra* mRNA translation. The introduction of either silent chromosomal mutations designed to melt the stem-loop structure or the deletion attenuated Nra levels, resulting in decreased pilus expression levels. Consequently, the thermosensitive translational efficacy of *nra* mRNA impacts pilus production, thereby potentially contributing to the fitness of *nra*-positive *S. pyogenes* in human tissues.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-15 多血小板フィブリン (PRF) 治療後の歯周組織再生に関する組織学的研究

○劉 宇豪, 東 雅啓, 松尾 雅斗
神歯大 院歯 口腔科学

Histological study on periodontal tissue regeneration after Platelet-rich fibrin (PRF) treatment

○Liu Y, Tou M, Matsuo M

Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

[Purpose] Regenerative therapy has become increasingly popular in dental medicine. Platelet-rich fibrin (PRF) is used in both humans and animals to aid the regeneration of soft and hard tissues of the periodontium. Platelets contain growth factors (vascular, endothelial, basic fibroblastic, and epidermal growth factors) and transforming growth factors β -1 and β -2. In this study, we focused on the regeneration of periodontal tissue, by studying the gingival tissue of beagle dogs. [Materials & methods] A total of 3 beagle dogs were used in this study. The premolars on both sides of the jaw were extracted to use the sockets for experimentation. Then, the PRF (Advanced-PRF or A-PRF) that was harvested exclusively for our experimental animals was applied to the premolars on one side, while the opposite side was designated as the control (without PRF). Specimens of gingival tissue were taken at days 7, 14, 30, 90 post PRF application and were observed under light and scanning electron microscopes. [Result & Conclusion] In the histological examination, the A-PRF group after 7 days had newly deposited collagen fibers and soft tissue covering the sockets. The gingiva of the control group had loose collagen fibers and structure, and the socket was filled with blood clots. Furthermore, the degree of vascularization in the soft tissue was higher in the A-PRF group than in the control group. After 14 days, newly formed bone was found to be centrally filling the sockets of the A-PRF group, while regular soft tissue structures appeared in the gingiva of the control group. After 30 days, the previously thick and regular bone trabeculae seen in the A-PRF group were arranged in a porous pattern. The regenerative action of A-PRF was more rapid than the natural self-limiting process that occurs during the induction of bone and soft tissue formation. This study demonstrated the difference in the rate of regeneration between the normal tissue and A-PRF-treated soft tissue during post-extraction healing in dogs. The periodontal tissue can heal more rapidly than the normal tissue following the application of A-PRF. Thus, A-PRF application may enhance the regeneration of gingival tissue in clinical practice.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-16 TNF- α 刺激ヒト歯肉線維芽細胞の MMP-1 と MMP-3 分泌に対する S-PRG フィラー溶出液の影響

○井上 博, 合田 征司

大歯大 生理

【目的】 S-PRG (surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer) フィラーは, 6 種類のイオン (Na^+ , F^- , Al^{3+} , BO_3^{3-} , Sr^{2+} , SiO_3^{2-}) 徐放能を有する齲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 TNF- α 刺激した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- α に懸濁させ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) HGF に希釈した S-PRG 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 の分泌が確認された. 2) HGF に希釈した S-PRG 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. 3) 培養上清中に分泌された MMP-1 と MMP-3 をウエスタンブロッティングにより検出することで各種 MAP キナーゼの阻害剤の影響を検討した. S-PRG フィラー溶出液により増加した MMP-1 と MMP-3 の分泌は p38 阻害剤により僅かに減少した. また, JNK 阻害剤と ERK 阻害剤では MMP-1 と MMP-3 分泌の著明な減少を認めた. 4) TNF- α 刺激した HGF の MMP-1 と MMP-3 分泌に対する S-PRG フィラー溶出液の影響について検討した. TNF- α 刺激により著明に増加した MMP-1 および MMP-3 の分泌は, TNF- α と S-PRG フィラー溶出液の共刺激により抑制された. 【考察】 以上の結果から S-PRG 刺激による MMP-1 と MMP-3 の分泌には p38, ERK1/2 と JNK のリン酸化が関与している可能性が示唆された. さらに, TNF- α 刺激による HGF の MMP-1 および MMP-3 分泌増強に対して, S-PRG フィラー溶出液刺激は抑制性に働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.

Effect of S-PRG filler eluate on MMP-1 and MMP-3 secretion in TNF- α stimulated human gingival fibroblasts

○Inoue H, Goda S

Dept Physiol, Osaka Dent Univ

The S-PRG filler is known to have a high cariostatic effect material. In this study, we examined the effect of S-PRG filler eluate on MMP-1 and MMP-3 secretion of human gingival fibroblasts (HGF). S-PRG filler eluate was added to HGF and we detected MMP-1 and MMP-3 secreted into the culture supernatant by immunoblotting. As a result, secretion of MMP-1 and MMP-3 were enhanced by S-PRG filler eluate. We assessed the effects of S-PRG filler eluate induced phosphorylation of p38, ERK 1/2 and JNK in HGF by immunoblotting. Results revealed that phosphorylation of p38 and ERK 1/2 occurred within 1 minute. However, phosphorylation of JNK was not enhanced by S-PRG filler eluate. Secretion of MMP-1 and MMP-3 increased by S-PRG filler eluate was slightly decreased by p38 inhibitor, but was markedly decreased by JNK inhibitor and ERK inhibitor. Secretion of MMP-1 and MMP-3 significantly increased by TNF- α stimulation was suppressed by S-PRG filter eluate. These results suggested that phosphorylation of p38, ERK 1/2 and JNK may be involved in the secretion of MMP-1 and MMP-3 by S-PRG filler eluate. Furthermore, it was suggested that S-PRG filler eluate may be suppressed the enhancement of MMP-1 and MMP-3 secretion by TNF- α stimulated HGF.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-17 *Porphyromonas gingivalis* 感染による脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) における歯肉循環変化の解析

○高橋 聡子¹, 吉野 文彦¹, 吉田 彩佳¹, 前畑洋次郎¹, 遠山 歳三¹, 佐藤 武則¹,
浜田 信城¹, 李 昌一², 高橋 俊介¹

¹神歯大 院歯 口腔科学, ²神歯大 院歯 横須賀・湘南・災害医療歯科研究セ

【目的】 これまでに四肢の反応性充血を測定するプレチスモグラフィを口腔循環系へ応用してきた。今回われわれは、歯周病と循環器疾患との関連性解明のため、脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) に歯周病原菌である *Porphyromonas gingivalis* (*P. g*) を感染させ、口腔内循環調節機能の変化を検討した。【材料と方法】 Wistar Kyoto Rat (WKY) と SHRSP を用い、血流測定用プローブで口蓋歯肉を1分間圧迫し、解放後の反応性充血 (RH) をレーザードップラー血流計により測定した (*in vivo*)。また *P. g* を感染させた WKY + *P. g* と SHRSP + *P. g* を作成し、同様に測定した。さらに、大動脈摘出リング標本を用い、等尺性張力変化を指標にアセチルコリン (ACh) による内皮依存性、ニトログリセリンによる内皮非依存性の一酸化窒素 (NO) による血管弛緩反応の解析を行った (*in vitro*)。【結果と考察】 RH の解析より、SHRSP で口腔内微小循環血流量の低下が示された。摘出血管の実験でも SHRSP において ACh による弛緩反応の抑制が確認され、この反応は O₂⁻ の消去剤処置により抑制された。また、*P. g* 感染群では、歯肉微小循環量の増大と摘出血管標本の ACh による内皮依存性弛緩反応の亢進が認められた。この結果は、SHRSP では、血管内皮機能変調による歯肉微小循環血流量が低下するが、一方で *P. g* 感染群においては血管内皮依存性弛緩反応が亢進していることを示している。これらの結果は、循環器疾患と歯周病は全身の循環機能のみならず歯肉血管の内皮機能にも影響を与え口腔内循環調節機能の変調を引き起こしていることを示唆しており、この反応には活性酸素種による酸化ストレスと NO 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。

***Porphyromonas gingivalis* infection modifies oral microcirculation function in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHRSP)**

○Wada-Takahashi S¹, Yoshino F¹, Yoshida A¹, Maehata Y¹, Toyama T¹, Sato T¹,
Hamada N¹, Lee MC², Takahashi SS¹

¹Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

²Yokosuka・Shonan・Disaster Health Emerg Res Cent

Reactive hyperemia of the oral microcirculation could be estimated as vascular endothelial function of general circulation. Using that methodology for measuring reactive hyperemia in the oral microcirculation, we examined endothelial function and gingival blood flow on the oral microcirculation of lifestyle-related disease animal models such as periodontitis (*P. g*) or stroke (SHRSP). Gingival reactive hyperemia (GRH) was decreased in WKY + *P. g* compared to WKY. However, GRH was significantly increased in SHRSP + *P. g* compared to SHRSP and in SHRSP after treatment with ACh. In addition, the endothelium-dependent relaxation evoked by ACh, which was involved in nitric oxide (NO) from endothelial NO synthase, to the ring preparations was attenuated in SHRSP compared to WKY, but not in SHRSP + *P. g*. This effect observed in SHRSP was protected by pretreatment with superoxide dismutase. Our results suggested that alteration of endothelial function may occur in gingival tissue on both periodontitis and stroke animal models. Oxidative stress induced by reactive oxygen species (ROS) may be related in vascular effects on both periodontitis and stroke model. Therefore, it would be likely that the disruption of vascular function of oral microcirculation would be caused by the interaction between ROS and NO on periodontitis same as stroke.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-18 三叉神経節ニューロンの機械刺激感受性

○東川明日香, 木村 麻記, 戸田はる菜, 嶋田みゆき, 大房 航, 大山 定男, 河野 恭祐,
望月 浩之, 澁川 義幸

東歯大 生理

歯髄に炎症が生じると血管拡張に伴う歯髄内圧の上昇が生じるが, この内圧増加は血管に並走する歯髄ニューロンに対する直接的な機械刺激となる. 加えて歯髄は硬組織に取り囲まれた low-compliance 環境にあり, 歯髄炎症は容易に歯髄内圧の増加をもたらす. 歯髄分布ニューロンには有髄神経線維である A ニューロンと無髄神経線維である C ニューロンがある. しかし, 歯髄内圧の上昇を三叉神経節 (TG) 細胞がどのように受容するか, TG ニューロンにおける機械感受性の詳細は明らかにされていない. そこで本研究では TG ニューロンから機械刺激誘発性イオン電流の記録を行った. TG ニューロンから Na^+ 電流を記録すると, その電流持続時間の長いもの (バンプ (+)-ニューロン) と短いもの (バンプ (-)-ニューロン) に分類できた. 単一バンプ (+)-ニューロンとバンプ (-)-ニューロンの細胞体に微小電極を押し当てることで直接機械刺激を加えると一過性の内向き電流が記録できた. 機械刺激誘発性の内向き電流は, 一過性の急速な内向き電流を示す最初の成分と, それに引きつづき生じる持続性のゆっくりとした内向き電流を示す成分の二相性成分で構成されていた. 膜伸展受容チャネルのプロッカーである Gd^{3+} ($1\mu\text{M}$) はバンプ (+)-ニューロンとバンプ (-)-ニューロンの両者において, 抑制を示す場合と, 示さない場合が見られた. TG ニューロンには Gd^{3+} 感受性機械感受性イオンチャネルと Gd^{3+} 非感受性機械刺激感受性イオンチャネルが発現していることが示された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Stretch-activated ionic channels in rat trigeminal ganglion neurons

○Higashikawa A, Kimura M, Toda H, Shimada M, Ofusa W, Ohyama S, Kono K, Mochizuki H,
Shibukawa Y

Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

Since the hard tissue (dentin/enamel) surrounding the dental pulp provides low compliance environment in the pulp. It has been known that pulpitis results in the rise of pulpal internal tissue pressure, which affects intradental afferents mechanically. However, detailed properties for mechanosensitivity of the pulpal-trigeminal ganglion (TG) neurons remained to be clarified. In the present study, we classified TG neurons into 2 types based on the duration of voltage dependent inward currents; neurons showing long-lasting inward current (bump (+)-neuron) or fast transient inward currents (bump (-)-neuron). We, then, recorded mechanical stimulation-induced ionic currents in these neurons and analyzed Gd^{3+} sensitivity. Gd^{3+} ($1\mu\text{M}$) significantly inhibited the mechanical stimulation induced-current amplitudes to 14% of the bump (-), and to 33% of bump (+)-TG neurons (while 86% of the bump (-) and 67% of bump (+)-TG neurons are not inhibited by Gd^{3+}). The results indicated that bump (+)- and bump (-)-TG neurons expressed both the Gd^{3+} -sensitive and Gd^{3+} -insensitive mechano-sensitive ion channels.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-19 象牙質痛メカニズムの解析: in vivo study

○大山 定男¹, 人見 涼露², 東川明日香¹, 大房 航¹, 戸田はる菜¹, 黒田 英孝³, 木村 麻記¹, 小野堅太郎², 澁川 義幸¹

¹東歯大 生理

²九歯大 健康増進 生理

³神歯大 全身管理医歯 麻酔

象牙質痛は、象牙質表面への様々な刺激による象牙細管内液の外向き移動によって生じる。一方、象牙質と歯髄の境界面には象牙質形成細胞である象牙芽細胞が存在している。象牙質刺激で生じた象牙細管内液移動は、象牙芽細胞の TRP チャネルおよび Piezo チャネルで受容され、細胞内カルシウムシグナルを介することで、パネキシンチャネルから ATP の放出を誘発する。放出された ATP は、歯髄に分布するニューロンの P2X₃受容体を活性化することで、活動電位を発生させ、象牙質痛が発生する。しかし、このような機械感受-象牙質痛変換機構の生体における機能的検索は未だない。そこで、われわれは象牙芽細胞とニューロン間の神経伝達が象牙質の痛みの発生に必須であるかどうかを調べるために象牙質痛モデルラットを作成し、痛みの行動を分析した。エナメル質表面に酸処理を行ったモデルラットを対照群（無切削群）とし、象牙質を露出させた群を切削処理群とした。切削処理群はさらにボンディング剤処理を行った群、P2X₃受容体選択的拮抗薬投与群、パネキシンチャネル遮断薬投与群、Piezo チャネル遮断薬投与群にわけ、歯への冷水刺激を行った際の疼痛発生を侵害受容性スコアとして評価した。切削処理群では侵害受容性スコアが有意に上昇し、ボンディング剤処理群、各アンタゴニスト投与群では、そのスコアは減少した。これらの結果は象牙芽細胞と歯髄ニューロンの神経性伝達が象牙痛発生に必要なことを示唆していた。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

In vivo study underlying the generation mechanism of dentinal pain

○Ohyama O¹, Hitomi S², Higashikawa A¹, Ofusa W¹, Toda H¹, Kuroda H³, Kimura M¹, Ono K², Sibukawa Y¹

¹Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

²Div Physiol, Dept Health Promot, Kyushu Dent Univ

³Dept Crit Care Med Dent, Div Anesthesiol, Kanagawa Dent Univ

Dentinal pain is caused by the dentinal fluid movement by the various stimuli applied on the dentin surface. Dentinal fluid movement activates mechanosensitive TRP/Piezo channels in odontoblasts, and subsequent Ca²⁺ signal elicits release of ATP from the pannexin channel. Released ATP then activates P2X₃ receptors in intradental afferents, to generate and propagate an action potential, resulting in the generation of dentinal pain. In this study, we analyzed rat pain behavior to examine whether these neural communication between odontoblasts and neurons was necessary for the generation of dentinal pain. We prepared rat model with dentin exposure on the mandibular incisors (pain group). For the pain group rats, we applied a bonding agent, and antagonists for the Piezo channel, P2X₃ receptor and pannexin-1 channel. We evaluated nociceptive scores upon cold water stimulation of incisors. The nociceptive score was significantly increased in the pain group rats, while the scores were decreased in the rat with bonding agent treatment as well as in the rat administrated by the various channel/receptor antagonists. These results suggested that neurotransmission between odontoblasts and neurons is necessary for the development of dentinal pain.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-20 歯肉線維芽細胞の老化制御の解析

○古川 匡恵¹, 松田 一成², 黒澤 実愛¹, 青木 優², 四釜 洋介¹, 松下 健二¹

¹長寿研究セ 口腔疾患研究

²第一三共ヘルスケア 研究開発 生物評価・分析グループ

【目的】近年、本邦の高齢者において歯周病の罹患率が増加傾向にある。歯周病は、糖尿病、心・脳血管系疾患、誤嚥性肺炎、関節症などの老年病の誘因となることから、その対策は喫緊の課題である。従来、老化が歯周病の発症と関連することが示唆されているが、歯周組織の老化が歯周病の病態形成に及ぼす影響については不明のままである。本研究では、ヒト歯肉線維芽細胞の老化現象を *in vitro* の実験系で明らかにするとともに、老齢マウスの歯肉組織における細胞老化も分析し、歯周病病態との関係を検討した。【方法】ヒト歯肉線維芽細胞(以下 hGF)を継代、および低濃度過酸化水素の処理で培養したした後、細胞老化マーカーである酸性 β ガラクトシダーゼ (SA β -gal) の染色性および p21, p16 の mRNA 発現を検討した。また、同細胞における各種 senescence-associated secretory phenotype (SASP) 因子 (IL-1 β , IL-6, TNF- α , MMP-9 等) の mRNA 発現を検討した。さらに、20ヶ月齢の C57BL/6Ncr1 マウス由来歯肉および歯肉線維芽細胞(MGF)における細胞老化マーカーと SASP 因子の発現を 10 週齢マウスのそれらと検討した。【結果】継代や低濃度の過酸化水素で処理した hGF において、細胞老化マーカーの発現が誘導されるとともに、各種 SASP 因子の発現が増強された。また、20ヶ月齢のマウスの歯肉組織では 10 週齢のそれと比較して、細胞老化マーカーと SASP 因子の発現増加が確認された。加えて、老齢マウス由来の歯肉線維芽細胞では若齢マウスのそれに比べて、細胞老化マーカーと SASP 因子が強く発現していた。【考察と結論】老化歯肉線維芽細胞および老齢マウス由来の歯肉組織において分子レベルの老化が確認された。歯肉における老化が歯周病の病態形成に関わ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。

Analysis of cellular senescence in gingival fibroblasts and in gingiva from aged mice

○Furukawa M¹, Matsuda K², Kurosawa M¹, Aoki Y², Shikama Y¹, Matsushita K¹

¹Dept Oral Dis Res, Natl Cent for Geriat Gerontol

²Biological & Analytical Res G, R&D, Daiichi Sankyo Healthcare Co., Ltd.

Aim: Senescent cells in periodontal tissues may be involved in the pathogenesis of periodontitis. In this study, we analyzed cellular senescence in gingival fibroblast cultures and in gingiva of aged mice and investigated its relationships with the pathogenesis of periodontal disease. Methods: Senescence in human gingival fibroblasts (HGFs) was induced by multiple passages or by stimulation with hydrogen peroxide (H₂O₂) and was evaluated by senescence associated β -galactosidase (SA- β -gal) staining and by mRNA expression of p16, p21, IL-1 β and TNF- α . The changes in SA- β -gal and p16 mRNA expression were evaluated in gingiva and gingival fibroblasts (MGFs) from 10-week-old and 20-month-old C57BL/6Ncr1 mice. Results & Conclusions: Cellular senescence is induced in cultured gingival fibroblasts and in the gingiva of aged mice. SA- β -gal and its activity were significantly increased in HGFs that had been cultured gingival fibroblasts and in the gingiva of aged mice. The ratio of SA- β -gal-positive cells and the expression of p16 mRNA in gingiva and MGFs from 20-month-old mice were significantly higher than those in gingiva and MGFs from 10-week-old mice. An increase in senescent cells in the gingiva may be associated with the pathogenesis of periodontitis in part through activating an inflammatory response in periodontal tissues.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-21 歯科用コーンビーム CT による下顎切歯根管形態の観察

○宇佐美晶信, 芹川 雅光

奥羽大 歯 口腔解剖

【目的】下顎切歯は1根管である頻度が高いが、2根管存在することがあることも知られている。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下顎中切歯及び側切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付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下顎切歯を含む81例のCBCT撮影データを用いた。計測する歯の歯軸に合わせた再構築画像を作成し、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スライスデータ上で根管数の観察をおこなった。【結果および考察】下顎中切歯の根管数は2根管のものが9.9%で観察された。歯頸側1/3では6.2%、中央では4.9%、歯根側1/3においては3.7%で2根管存在していた。下顎側切歯の根管数は2根管のものが12.3%で観察された。歯頸側1/3では9.9%、中央では11.1%、歯根側1/3においては2.5%で2根管存在していた。この結果より、下顎切歯は2根管存在する場合は歯頸側1/3および歯根中央で分岐していることが多かった。下顎切歯の根管治療に際して、デンタルエックス線で複根管の可能性が考えられる際にCBCTによる評価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。

Observations of mandibular incisor root canal shape using cone beam computed tomography

○Usami A, Serikawa M

Dept Oral Anat, Ohu Univ Sch Dent

Purpose: Mandibular incisor root canal differences have been reported. For the present study, we employed dental cone beam computed tomography (CBCT) to evaluate the shape of root canals of mandibular incisors. Material & Methods: Eighty-one reconstructed CBCT images that included mandibular incisors were obtained from Ohu University Hospital. To investigate the shape of the root canal in those, slice images were obtained from the cervical third, midway, and apical third portions of the roots. We then performed morphological evaluations of the imaged root canals. Results & Conclusion: Two root canals for the mandibular central incisor were observed in 9.9% of the cases. Two root canals for the central incisor were shown to exist in the cervical third portion in 6.2%, the midway portion in 4.9%, and the apical third portion in 3.7%. As for mandibular lateral incisors, two root canals were observed in 12.3%. Two root canals for the lateral incisor root were shown to exist in the cervical third portion in 9.9%, the midway portion in 11.1%, and the apical third portion in 2.5%. For detailed evaluations of multiple root canals of mandibular incisors, CBCT findings were found to be useful.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-22 卵殻膜とビタミン C 投与による歯の移動時の組織学的変化について

○元地 弘樹, 東 雅啓, 日高 恒輝, 松尾 雅斗
神歯大 院歯 歯科形態

【目的】矯正学的歯の移動を促進するために様々な物質が応用されてきた。鶏卵殻膜は創傷治癒を促進させるとされ古くより外傷の治療に用いられてきた。これは鶏卵殻膜が線維芽細胞を活性化させ特に III 型コラーゲンの発現量を増加させると言われている。また、ビタミン C も同様にコラーゲン合成にかかわっている素材の一つである。本研究は、鶏卵殻膜およびビタミン C 投与が歯の移動に及ぼす影響を組織学的に検討した。【材料および方法】10 週齢雄 ODS ラット 20 匹を対照 (CON) 群、ビタミン C 単独投与群 (VC)、卵殻膜単独投与 (ES) 群、ビタミン C 及び卵殻膜併用投与 (VC + ES) 群に分け 10 日間経口投与を行った。歯の移動術式は、上顎切歯と第一臼歯とを歯科矯正用 NiTi クローズドコイルスプリングにより 75 g 及び 25g の矯正力で牽引した。術後 3, 7, 10 日後にコンタクトゲージを用いて第一臼歯と第二臼歯間距離を測定した。術後 10 日目に組織標本作製を行い、HE 染色及び免疫染色を施し顕微鏡観察を行った。また、免疫染色標本よりコラーゲン線維量を計測した。【結果および考察】歯の移動距離は、VC + ES 群が CON 群に比較して著しい増加を示し VC 群と ES 群はその中間にあった。また、75 g 群の方が 25g 群より移動距離が多かった。HE 染色切片の光学顕微鏡観察では、移動距離の大きい群の圧迫側では歯根膜線維が圧縮され、骨吸収が生じていた。それに対して牽引側では歯根膜線維の伸展と改築が認められた。免疫染色でコラーゲン線維量を計測すると、VC + ES 群の牽引側及び圧迫側に III 型コラーゲン及び I 型コラーゲンの増加が認められた。【結論】本研究の結果から、卵殻膜とビタミン C を併用した経口摂取は、創傷治癒過程の初期段階において歯根膜線維のリモデリングが活性化することにより、歯の移動を促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。

Histological changes in periodontal tissue caused by tooth movement after oral administration of eggshell membrane and vitamin C

○Motoji H, To M, Hidaka K, Matsuo M

Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent Dept Oral Interdiscipl Med Dept Oral Sci

< Objective > Many substances have been tested for their ability to accelerate orthodontic tooth movement (OTM). Avian eggshell membrane (ES) reportedly accelerates wound healing, by activating fibroblasts and increasing type III collagen content, and has been used therapeutically since ancient times. Additionally, vitamin C (VC) assists collagen synthesis. We assessed the histological effects of ES and VC on OTM. . < Materials and Methods > Twenty 10-week-old male osteogenic disorder Shionogi rats were divided into four groups-control (CON), VC, ES, and VC + ES, and orally administered for ten days. Nickel-titanium closed coil springs were attached to first molars via incisors. Mesial force of the first molar was 75 or 25 g. Three, seven, and ten days after OTM, distance between first and second molars was measured with contact gauges. Thereafter, the rats were sacrificed for obtaining tissue specimens for immunohistochemical analysis. < Results and Discussion > VC + ES group showed significantly longer OTM distance than CON group. Immunohistochemical analysis of specimens from VC + ES group demonstrated significant type I and type III collagen immunostaining on the tension and compression sides. . < Conclusions > Orally administered ES and VC accelerates OTM by hastening periodontal tissue recovery in the early stage of wound healing.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-23 歯槽骨歯槽頂部の発生—歯根膜-固有歯槽骨連結部の形成は骨膜-皮質骨のそれとは異なる—

○河野 芳朗, 杉山 明子, 滝川 俊也

朝日大 歯 口腔解剖

【緒言】歯根膜の発生は発生段階、および部位によって多様な相を示すため、体系的な組織学的解析をするのは困難であった。そこで我々は、歯槽骨の発生、および歯根膜の発生について、組織形態計測的手法、および免疫組織化学的手法を用いて、歯周組織発生における歯槽骨表面への歯根膜の埋入、並びに、歯根骨表面における AQP1 陽性細胞、ENPP1 陽性細胞、および破骨細胞の細胞動態について報告し、歯根膜発生における、歯根膜-歯槽骨埋入部での時間-空間的事象を明らかにしてきた。本研究では歯槽骨頂部の発生におけるアクアポリン 1 (AQP1) 陽性細胞、および ENPP1 陽性細胞の動態を観察し、Sharpey 線維の埋入について新たな知見を得たので報告する。

【材料と方法】実験動物としてウイスター系ラットを使用し、生後 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 日齢でカルセイン、テトラサイクリンを交互に腹腔内投与し、骨化前線の蛍光標識を行った。上顎第一大臼歯、歯槽頂部の発生に着目し、AQP1, ENPP1 免疫染色を行い歯槽頂部歯根膜の発生を解析した。解析の結果、ラット臼歯歯槽頂部はおよびその歯根膜は下部固有歯槽骨とは異なり、30 日齢以降、歯の萌出に同調して、付加的成長を伴い、それと同時に歯根膜も新生した。歯根膜の新生時に破骨細胞の出現は見られなかった。AQP1 陽性細胞は歯槽骨表面、および歯槽骨外側面に出現した。しかしながら、ENPP1 陽性細胞は、固有歯槽骨-歯根膜界面に出現が持続したが、外側骨膜面には出現しなかった。【結論】歯根膜線維-固有歯槽骨界面の発生 (Sharpey 線維の形成は) 骨膜-皮質骨との界面の発生とは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。

Development of alveolar crest in rats: development of fibrous interfaces differs between alveolar bone proper and cortical bone

○Kawano Y, Sugiyama A, Takigawa T

Dept Oral Anat, Asahi Univ

Systematic histological analysis of periodontium development involves difficulty as development of periodontal ligament (PDL) and alveolar bone proper (ABP) exhibits various phases according to the stages and regions. We have reported cellular dynamics of different cell types such as aquaporin 1 (AQP1), Ectonucleotide Pyrophosphatase/Phosphodiesterase 1 (ENPP1), and cathepsin K positive cells during the development of periodontium using histomorphometry and immunohistochemistry. The purpose of this study is to clarify the development of alveolar crest with special attention to the behaviors of AQP1 positive cells and ENPP1 positive cells. We labeled the mineralizing front using alternate intraperitoneal injection of calcein and tetracycline on every fifth day from 10 to 60-days-old. Rats were subjected to immunohistochemistry for AQP1 and ENPP1 and medial alveolar crests of maxillary first molars were observed. Fluorochrome observation revealed that alveolar crests grew appositionally toward the outer surface of alveolar bone from 30-day-old synchronously with the tooth eruption, and simultaneously, periodontium formed de novo. During this period, AQP1-positive cells emerged on both surfaces of alveolar crests, alveolar bone proper and cortical bone. However, ENPP1-positive cells appeared only on the surface of alveolar bone proper. PDL-ABP interface may form in a different way to Sharpey's fiber formation in periosteum-cortical bone.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-24 熱処理によってアテロコラーゲン・ゼラチンスポンジの分解性能の低下

○Yang Longqiang¹, 三浦 直², 笠原 正貴¹

¹東歯大 薬理

²東歯大 口腔科学研究セ

Decreased in vitro degradation of atelocollagen/gelatin sponge by heat treatment

○Yang L¹, Miura T², Kasahara M¹

¹Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll

²Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll

Purpose: Atelocollagen/gelatin (ACG) sponges are successfully fabricated from water-insoluble atelocollagen and water-soluble gelatin powders with lyophilization technique. Generally, chemical reagents like glutaraldehyde are used to crosslink and stabilize biomaterials including gelatin and collagen. How heat treatment affects the stability of ACG sponges remains elusive. This study aimed to investigate the effects of heat treatment on the in vitro degradation behaviors of ACG sponge. Materials & Methods: The samples of 0.6% (wt/v) atelocollagen + 2.4% gelatin (0.6% AC + 2.4% G) and 3% gelatin sponges were fabricated with lyophilization technique according to our previous publication. The freezing temperature was -30oC and freezing time was 12 hours. Then half of 0.6% AC + 2.4% G and 3% gelatin sponge samples were heat treated at 125oC for 12 hours in the vacuum, and the other half were not heat treated. Scanning electron microscope (SEM) was employed to assess the microstructures of the samples. The porosity and pore size were measured with ImageJ software. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) was used to evaluate the chemical interaction and possible new bond formation. The in vitro degradation rate in PBS solution was measured at various time points. Results: Regular porous structures were observed in 0.6% AC + 2.4% G and 3% gelatin sponges regardless of heat treatment. Heat treatment did not change the porosity and pore size of 0.6% AC + 2.4% G and 3% gelatin sponges. FTIR results showed that the increased absorbance of amide C=O stretches was observed in heat treated 0.6% AC + 2.4% G sponge, and no change was found in 3% gelatin sponge. The in vitro degradation of heat treated 0.6% AC + 2.4% G sponge was significantly decreased in vitro. Moreover, heat treated 0.6% AC + 2.4% G sponge maintained its good three-dimensional structure even after 7 days. On the contrary, the non-heat treated 0.6% AC + 2.4% G sponge was dissolved into PBS solution in less than 24 hours. The 3% gelatin sponges with or without heat treatment were dissolved into PBS solution in less than 15 minutes. Conclusion: Heat treatment did not affect the porosity and pore size. However, heat treatment was shown to significantly decrease the in vitro degradation of 0.6% AC + 2.4% G sponge, which was contributed by the increased amide bond formation. This indicates that heat treatment at 125oC in the vacuum may be an effective method to crosslink, stabilize and even sterilize the ACG sponge at a lower cost for future clinical applications.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-25 硬組織ラベリング法による放射線照射したマウス歯胚の根尖部の観察

○井出 吉昭¹, 深田 哲也², 那須 優則³, 中原 貴¹

¹日歯大 生命歯 発生再生, ²日歯大 生命歯 薬理

³日歯大 生命歯 共同研

【目的】小児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。これまでに放射線照射による歯根形成障害のメカニズムを明らかにするため、マウス下顎第1臼歯(M1)の局所照射法を確立し、歯根の短縮が生じることを確認している。本研究では、放射線照射した歯胚の根尖部の形態異常を明らかにするため、硬組織ラベリング法と組織染色による観察を行った。【方法】歯根形成が開始する生後5日齢(P5)のマウス(C57BL/6J)のM1へ放射線照射を行った(X-ray;20 Gy; tube voltage,150 kV; tube current,20 mA; dose rate,2.3 Gy/min; filter,0.5 mm Al + 0.1 mm Cu; and focus-object distance,350 mm)。コリメータとしてφ3.0 mmの孔を開けた厚さ11 mmの鉛ガラス(鉛当量2.5 mm)を使用した。硬組織ラベリング法による観察のため、局所照射後、P11とP13にAlizarin red (40μg/g BW), P12とP14にCalcein (10μg/g BW)を腹腔内投与して、P15で下顎を採取した。非脱灰凍結切片を川本法により作製し、蛍光顕微鏡でラベリング線を観察した。また、組織染色による観察のため、局所照射後にP13で下顎を採取した。脱灰切片を作製し、HE染色、抗Cytokeratin (CK)抗体と抗Nestin抗体による免疫染色を行った。【結果と考察】放射線照射した歯胚の根尖部に異常な石灰化形成がみられ、CK陽性Hertwig's上皮鞘が硬組織に囲まれていた。この形態異常は、Alizarin redとCalceinのラベリング線とNestin陽性象牙芽細胞の局在の結果から、根尖が外側(歯根膜側)に反転することにより生じたと考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Observation of dental root apices on irradiated mice by various fluorescent-labeling method

○Ide Y¹, Fukada T², Nasu M³, Nakahara T¹

¹Dept Dev & Reg Dent, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

²Dept Pharm, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

³Res Cent for Odont, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

Purpose: It is known that radiotherapy disrupts dental root formation. In our previous study, to elucidate the mechanisms of irradiation induced damage to the root formation, we established a local irradiation method that irradiates a mandibular first molar (M1). And, it is confirmed that dental root formation of M1 disrupted. In the present study, to investigate abnormal morphology of apical root on irradiated mice, observation was performed by various fluorescent-labeling method and staining. Methods: Dental root of M1 begins to enlarge at P5. Local irradiation focusing on the mandible left M1 of P5 mice was performed. Lead glass plates with a φ3.0 mm hole was used as a collimator. To observe by various fluorescent-labeling method, Alizarin red (P11, P13) and Calcein (P12, P14) were intraperitoneally injected after irradiation. And then, mandibles were obtained at P15. To observe by staining, mandibles were obtained at P13. HE staining and immunoperoxidase staining using Cytokeratin (CK) and Nestin were performed. Results & Discussion: On irradiated tooth germs, irregular calcification surrounding HERS was found in apical roots. From results of fluorescent-labeling and Nestin, it was considered that this abnormal morphology caused due to the inversion of the root dentin outward.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-26 エナメル上皮幹細胞運命決定における低酸素—細胞内シグナル連関

○大津 圭史¹, 池崎昌二郎¹, 大島 勇人², 原田 英光¹

¹岩医大 歯 発生生物

²新潟大 院医歯 硬組織形態

組織内酸素濃度が幹細胞の運命決定に関与していることが報告されているが、その詳細な制御メカニズムは十分に理解されていない。本研究は、組織内酸素濃度がエナメル上皮幹細胞に与える影響を調べることで、新規の幹細胞運命決定機構を明らかにすることを目的に行った。まず始めに、酸素濃度と組織学的環境との関係を示すため、細胞分裂頻度が低く非対称分裂を示すエナメル上皮幹細胞(DESCs)と、活発に増殖する内エナメル上皮(transit-amplifying cells, TACs)において、ミトコンドリアの形態と数、酸化リン酸化の活性、周囲血管との距離について調べた。その結果、DESCsではTACsに比べて、ミトコンドリアの数が少なく、小さいこと、また酸化リン酸化マーカーの発現がほとんど見られないこと、細胞周囲の血管は数が少なく距離も遠いことなどから、DESCsはより低酸素環境下にあると考えられた。次にマウス切歯や培養エナメル上皮細胞を低酸素環境で培養すると細胞分裂の抑制、幹細胞マーカー Sox2 の発現上昇にくわえ RhoA シグナルの活性化が観察された。さらに培養エナメル上皮細胞において RhoA シグナルやその下流の actomyosin 形成を阻害すると、細胞接着の低下とともに、細胞分裂の促進、Yap と LATS1/2 の脱リン酸化、YAP/TAZ の細胞核への移行が誘導された。さらに細胞分裂の促進、Yap と LATS1/2 の脱リン酸化、YAP/TAZ の細胞核への移行は、細胞骨格タンパク Merlin の発現を抑制することによっても促進された。以上より、組織内酸素濃度は RhoA-細胞骨格-YAP/TAZ シグナルを介してエナメル上皮幹細胞の運命決定に関わっ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。

Interaction between hypoxia and intracellular signaling in cell fate decision of dental epithelial stem cells

○Otsu K¹, Ikezaki S¹, Ohshima H², Harada H¹

¹Div Dev Bio Reg Med Iwate Med Univ Sch Dent

²Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Extracellular microenvironment such as oxygen has been shown to regulate stem cell fate decision. However, the regulatory mechanism is not fully understood. In this study, we investigated the effect of oxygen level on cell fate decision from slow cycling dental epithelial stem cells (DESCs) to actively proliferating transit amplifying cells (TACs) using mouse incisor. First, we found that DESCs kept the distance from the blood vessel, whereas the high dense blood vessel was close to the TA area. The number of mitochondria in DESCs was fewer and the size was smaller, compared with that in TA cells. The expression of pyruvate dehydrogenase (PDH) in DESCs were also lower than that of TA cells. These results suggested that DESCs were maintained in low oxygen environment. Next, when mouse incisor and dental epithelial cells were cultured under hypoxic condition, the cell proliferation was reduced and expression of active-RhoA and Sox2 were increased. Conversely, inhibition of RhoA and its downstream actomyosin promoted cell proliferation, dephosphorylation of Yap and LATS1/2, and the nuclear translocation of YAP/TAZ. Together, these results suggested that microenvironment oxygen level regulated cell fate of DESCs via RhoA-cytoskeleton-YAP/TAZ signal.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-27 Crouzon 症候群患者由来の歯髄幹細胞における遺伝子発現とタンパク質発現の解析

○鳥居 大祐¹, 小林 朋子^{2,3}, 堀江 哲郎², 筒井 健夫¹

¹日歯大 生命歯 薬理

²日歯大 生命歯 共同研

³医科歯科大 院医歯 歯周病

【目的】 Crouzon 症候群は、頭蓋変形・中顔面低形成・眼球突出・気管および四肢の異常などを主徴とする、遺伝性の頭蓋骨縫合早期癒合症候群の 1 つであり、FGFR2 の点変異が原因であることが知られているが、発症機序の詳細については不明である。本研究では、Crouzon 症候群患者における基礎データを得る目的で、Crouzon 症候群と診断を受けた患者の歯髄組織から得られた歯髄幹細胞の、無血清培地における *in vitro* での遺伝子発現とタンパク質発現の量を、健常者の歯髄組織由来の歯髄幹細胞と比較した。【方法】 歯髄幹細胞は、血清含有培地で 1 継代培養した後、無血清培養を行い、RNA とタンパク質を抽出し、RT-PCR および qRT-PCR の解析と、ウェスタンブロットティングを行った。【結果】 RT-PCR の解析より、Crouzon 症候群患者由来および健常者由来歯髄幹細胞において、幹細胞関連遺伝子である *OCT3/4* と *NANOG*、および *CD146* の発現が解析された。また、qRT-PCR の結果より、健常者由来歯髄幹細胞と比較して、Crouzon 症候群患者由来歯髄幹細胞では、硬組織形成関連遺伝子である *BGLAP* および *SP7* の高発現が解析され、さらに、ウェスタンブロットティングの結果より、ERK1/2 の低リン酸化率が解析された。【考察】 本研究より、Crouzon 症候群の患者の歯髄組織に由来する歯髄幹細胞では、硬組織形成関連遺伝子の高発現が解析され、歯髄再生医療において、患者由来の細胞を用いた歯髄再生への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 gene and protein expression in dental pulp stem cells isolated from a patient diagnosed as Crouzon syndrome

○Torii D¹, Kobayashi T^{2,3}, Horie T², Tsutsui TW¹

¹Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

²Res Cent Odont, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

³Dept Periodontol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

Purpose: In this study, we analyzed gene expression and protein expression in dental pulp stem cells (DPSCs) isolated from a patient diagnosed as Crouzon syndrome using serum-free medium (SF-medium) for culture. Methods: We cultured DPSCs isolated from Crouzon syndrome (CS-DPSCs) with serum-containing medium until passage 1, and subsequently, cultured CS-DPSCs with SF-medium. We analyzed gene expression in CS-DPSCs by RT-PCR and qRT-PCR *in vitro*. Furthermore, we analyzed protein expression in CS-DPSCs by Western blotting. Results: RT-PCR assay revealed expression of *OCT3/4*, *NANOG*, and *CD146*. As the result of qRT-PCR, high expression of *BGLAP* and *SP7* were detected in CS-DPSCs compared with in normal DPSCs. Furthermore, Western blotting revealed lower ERK1/2 phosphorylation rate in CS-DPSCs than in normal DPSCs. Conclusion: CS-DPSCs showed expression of mineralization-related genes *in vitro*. Our data suggest that possibility of regenerative therapy using patient own DPSCs.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-28 歯胚上皮及び歯髄幹細胞・象牙芽細胞維持に関わる Shh-Ptch-Gli シグナル経路

○石川 裕子¹, 依田 浩子², 斎藤浩太郎², 中富 満城³, 大島 勇人²

¹千葉保医大 健康科学 歯科衛生

²新潟大 院医歯 硬組織形態

³九歯大 解剖

【目的】 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, 歯胚上皮及び歯髄幹細胞・象牙芽細胞維持に関わる Shh-Ptch-Gli シグナル経路を解明することを目的とした. **【方法】** 胎生 14-15 日齢に dox を投与した TetOP-H2B-GFP マウスを生後 1 日~5 週齢まで経時的にアルデヒド系固定液にて灌流固定し, EDTA で脱灰・パラフィン包埋後, 頭部矢状断パラフィン切片を作製し, 抗 Gli1, Ptch1, Ptch2 免疫組織化学を行った. また, *Shh*, *Ptch1* の mRNA 発現を *in situ* ハイブリダイゼーション法で調べた. さらに TetOP-H2B-GFP マウス下顎切歯を摘出し Trowell 法にて器官培養を行い, Shh 阻害剤である 5E1 を培地に 4 日間添加 (26 µg/ml) した. その後, パラフィン切片を作成し, 抗 Sox2 免疫組織化学を行った. **【結果と考察】** *in vivo* 実験では, 切歯 apical bud に GFP・Gli1・Ptch1 陽性細胞が局在した. 生後 5 週臼歯で象牙芽細胞・象牙芽細胞下層に GFP 強陽性細胞が局在し, 歯髄中央部の GFP 陽性細胞は有意に減少するものの, Gli1 陽性反応は持続した. 内エナメル上皮に強い *Shh*-mRNA 発現が見られ, 象牙質の石灰化に呼応してエナメル器での発現が消失し, 象牙芽細胞に弱い発現が見られた. *Ptch1*-mRNA 発現は, 生後 1 日臼歯で内エナメル上皮と髄角部歯髄に強い発現が見られ, その後歯髄の発現は減弱するものの象牙芽細胞に弱い発現が持続した. *in vitro* 実験では, 5E1 添加により Sox2 発現の減少が観察された. 以上より, 歯胚上皮及び間葉における静的幹細胞, 象牙芽細胞維持への Shh-Ptch-Gli シグナル経路の関与が示唆された. **【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

Shh-Ptch-Gli signaling pathway in maintaining dental epithelial and pulp stem cells and odontoblasts

○Ishikawa Y¹, Ida-Yonemochi H², Saito K², Nakatomi M³, Ohshima H²

¹Dep Dent Hygiene, Health Care Sci, Chiba Pref Univ Health Sci

²Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

³Div Anat, Kyushu Dent Univ

Objective: This study aimed to elucidate the role of Shh-Ptch-Gli signaling pathway in maintaining dental epithelial and pulp stem cells and odontoblasts. **Methods:** Doxycycline (dox)-inducible H2B-GFP transgenic mice with the ingestion of dox at prenatal embryonic days 14-15 were collected on postnatal day 1 (P1) to week 5 (P5W). Immunohistochemistry for Gli1, Ptch1, and Ptch2 and *in situ* hybridization for *Shh* and *Ptch1* was conducted. Mandibular incisor of P2 H2B-GFP transgenic mice was cultivated in a nutrient medium with 5E1 (Shh inhibitor) during 4 days, and subsequently processed for immunohistochemistry for Sox2. **Results and Conclusions:** In molars, dense GFP-positive cells are localized in the odontoblasts and subodontoblastic layer, and GFP- and Gli1-positive cells in the center of pulp tissue decreased in number on P5W. *Shh*-mRNA was expressed in the inner enamel epithelium and shifted into odontoblasts after dentin deposition. *Ptch1*-mRNA were expressed in the inner enamel epithelium and the cuspal pulpal tissue on P1. In incisors, the apical bud contained GFP-, Gli1-, Ptch1-positive cells. In the *in vitro* experiments, the addition of 5E1 induced the decreased number of Sox2-positive cells in the apical bud. Thus, Shh-Ptch-Gli signaling pathway plays a role in maintaining quiescent adult stem cells and odontoblasts. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

P3-29 TGF β -アイソフォームによる成熟期エナメルタンパク遺伝子発現の制御

○宮川 友里¹, 唐木田丈夫², 小林 冴子¹, 山越 康夫², 朝田 芳信¹

¹鶴大 歯 小児歯

²鶴大 歯 生化

トランスフォーミング成長因子ベータ (TGF- β) は、哺乳類において 3 種類のアイソフォーム (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) が存在する。我々はこれまでに基質形成期エナメル質において、TGF- β 1 がオートクリン作用によって細胞内シグナル伝達を引き起こすこと、TGF- β 1 および TGF- β 2 が成熟期エナメル芽細胞が発現するタンパク遺伝子レベルを促進させ、TGF- β 3 は抑制する傾向にあることを示してきた。【目的】今回我々は、TGF- β アイソフォームによる成熟期エナメルタンパクに対する遺伝子発現システムの違いにタンパク質合成が関与しているかどうかを調べることを目的とした。【材料と方法】マウスエナメル上皮細胞株 (mHAT9d) に TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 をそれぞれ添加した群と各 TGF- β アイソフォームにタンパク合成阻害剤であるシクロヘキシミド (CHX) を併用した群を 24 時間培養し、成熟期エナメル芽細胞が発現するタンパク遺伝子を定量 PCR にて調べた。また TGF- β のシグナル伝達に関わる Smad のリン酸化についてウェスタンブロットを行って比較した。【結果および考察】定量 PCR の結果より、TGF- β アイソフォーム投与群ではほとんどの遺伝子発現が促進傾向にあったが、CHX 併用群ではそれぞれの遺伝子発現は抑制された。また、ウェスタンブロット解析では、Smad3 のリン酸化が TGF- β アイソフォーム投与群で促進されていたが、各アイソフォーム間で差は認められなかった。これらの結果より、TGF- β アイソフォームは、タンパク質合成を介して成熟期エナメル芽細胞の遺伝子発現を制御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。

Regulation of gene expression of maturation-stage enamel proteins by TGF- β isoforms

○Miyakawa Y¹, Karakida T², Kobayashi S¹, Yamakoshi Y², Asada Y¹

¹Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med

²Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Transforming growth factor-beta (TGF- β) is involved in tooth formation. There are three isoforms (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) in mammals. We have previously shown that TGF- β 1 causes the signaling in ameloblasts by autocrine and TGF- β isoforms individually regulate gene expression of maturation-stage ameloblasts. **Our objective:** is to determine whether the protein synthesis is involved in such gene expression. **Methods:** Using mHAT9d cells cultured in the presence of each TGF- β isoform with or without a cycloheximide (CHX), gene expression level for maturation-stage enamel proteins is analyzed by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). Moreover, the phosphorylation level for Smad3 was investigated by Western blotting. **Results and Discussion:** The qPCR analysis showed that most of the gene expression tended to be promoted in the TGF- β isoform-only group, but each gene expression was suppressed in the CHX combination group. Western blot analysis revealed that Smad3 phosphorylation was promoted in the TGF- β isoform-only group, but there was no difference between each isoform. These results suggest that TGF- β isoform regulates gene expression in maturation-stage ameloblasts through protein synthesis.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-30 ヒト部位別顔面皮下組織構造における立体構造の走査型電子顕微鏡による観察

○天野カオリ, 日高 恒輝, 山本 麗子, 松尾 雅斗

神歯大 院歯 口腔科学

研究目的：ヒト表情筋において筋膜 fascia は身体他領域骨格筋とは異なり，皮膚下層で脂肪組織間に存在する層状結合組織層，すなわち表層筋腱膜システム superficial musculoaponeurotic system (SMAS) を備えている。この構造はフェイスリフトなど顔面の回復術式に利用されている関係上，形成外科領域では既にその存在は確立されている。顔面領域における SMAS を含める皮下組織構造に関する報告は形成外科領域が大部分を占めているが，こと日本国内において本来先だてて確立されるべき形態構造学的な視点から観察された詳細報告は少ない。解剖学領域において顔面筋表層を包む筋膜は存在せず，いわゆる一般的な骨格筋表面にみられる深層筋膜とは異なるため，未だ明瞭な定義づけは確立されていない。また，皮下組織構造は顔面部の領域によって異なるのか，特に加齢に伴う顔面形態の変化との関連性があるのか，この構造の存在意義をより明確にすること，加えて生体ではなく解剖体を使用して形態学的に証明することを本研究の目的とする。材料・方法：日本大学医学部ならびに杏林大学医学部所蔵解剖遺体7体を使用した。試料は1眉間部，2眼角部，3眼窩下部，4頬部，5咬筋部，6耳下腺部，7ほうれい線部の計7部位について皮膚から骨面に沿って摘出し走査型電子顕微鏡により観察した。また，一部試料はパラフィン切片を作成しHE染色ならびに弾性線維の分布状態をみるためにエラスチカワンギーンEVG染色を行った。結果・考察：眼窩下部の皮下組織構造は脂肪組織が少なく，皮膚が不均等な厚さであることが認められた。ほうれい線部の皮下組織は特に脂肪-脂肪組織間において隙間や段差が多くみとめられ，これらは加齢により脂肪が収縮・減少することにより生じていることが推測されるが，この構造は個人により異なる事が考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Morphological study of human facial fascia and subcutaneous tissue structure by region through SEM observation

○Amano K, Hidaka K, Yamamoto R, Matsuo M

Dept Oral Sci, Kanagawa Univ Grad Sch Dent

Unlike any other part of the human body, fascia of the facial area does not envelope the muscle surface, but is rather contiguous between fat tissues of the subcutaneous tissue layer and connective tissue. This structure is called the superficial musculoaponeurotic system (SMAS). SMAS is accepted as an international anatomical terminology. This special structure is commonly used to pull facial muscles during plastic surgeries such as a face lift. Most reports regarding the facial subcutaneous tissue structure including SMAS are in the field of plastic surgery. Only a few studies from a morphological perspective have been reported. Since anatomically, the facial fascia does not envelope the muscular surface layer, different from the deep fascia found on the general skeletal muscle surface, a clear definition of this structure has not been established yet. The purpose of this study is to clearly identify the basic morphological structure of this subcutaneous tissue structure including the SMAS three dimensionally through a scanning electron microscope SEM using dissected specimen rather than living subjects.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-31 高齢者の嚥下機能低下に関与する喉頭蓋の加齢変化における組織学的観察

○芹川 雅光, 宇佐美晶信

奥羽大 歯 口腔解剖

【目的】喉頭蓋は摂食・嚥下運動を行う上で極めて重要な役割を担う器官の一つである。これまで、嚥下機能低下と関連した喉頭蓋や周囲靭帯などの組織学的研究はあまり行われていなかった。そこで本研究は、高齢者の加齢変化による形態的特徴を明らかにする目的で、喉頭蓋と周囲構造物を含めた組織学的観察を行った。【方法】試料として、奥羽大学の解剖実習体から喉頭蓋とその周囲の構造物を含めた組織片を採取した。全体像の観察のためにHE染色、線維や血球成分などの分布や走行の観察のためにElastica-Van Gieson染色と、第8因子やFibrillin 1に対する免疫組織化学的染色を行った。【結果】喉頭蓋上皮下には、軟骨細胞や結合組織、腺組織などが観察され、その周囲には脂肪組織の介在が見られた。腺組織において、加齢によると考えられる腺房細胞の脂肪変性が見られるものもあった。周囲靭帯には弾性線維の束が血管壁の周囲などに見られた一方で、その量が少ないように見える試料もあった。多量に含まれる膠原線維は軟骨に向かって走行し入り込む様子が見られ、網目状に分布する弾性線維は軟骨の手前で途切れている様子が観察された。また、血管壁の周囲や弾性線維束の中に弾性線維よりは細く短い構造を呈する微小線維が見られた。【考察】多量の膠原線維による結合組織の線維化、唾液腺の萎縮やそれに伴う脂肪組織の増加などの変化が見られ、これらは加齢によるものと考えられた。嚥下時の喉頭挙上において、弾性線維は機械的強度の観点などから補助的なものとして機能していることが考えられた。弾性線維の量の低下は喉頭系器官の廃用萎縮により引き起こされた変化の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。

Histological observation of age-related changes in the epiglottis that contribute to loss of swallowing function in older adults

○Serikawa M, Usami A

Ohu Univ Sch Dent, Div Oral Anat

Aim: Histological observation of the epiglottis and surrounding structures was conducted to elucidate the morphological changes due to advancement of age. Methods: The epiglottis and surrounding tissue samples were obtained from cadaver(s). Hematoxylin and eosin (HE) staining was performed for broad sample visualization, and Elastica van Gieson staining was used to visualize the distribution and migration of fibers, blood cell components, and other such parameters; immunohistological staining was conducted to visualize factor-VIII and fibrillin-I. Results: Elastic fiber bundles were observed near the vascular walls of the peripheral ligaments and other areas. We observed that a large amount of collagen fibers and mesh were distributed throughout the cartilage and the elastic fibers had terminated prior to cartilage articulation. Moreover, microfilaments that were thinner and shorter than the elastic fibers were also observed peripheral to the vascular walls. Discussion: It is believed that connective tissue fibrosis resulting from an increase in collagen fibers, salivary gland atrophy, associated increase in adipose tissue, and other changes can be attributed to aging. It is further believed that the reduction of elastic fibers may be due to disuse atrophy of the laryngeal organs.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-32 舌神経口峽枝の分布および舌下神経との交通枝

○下高原理恵, 峰 和治, 田松 裕一

鹿大 院医歯 解剖法歯

【目的】埋伏智歯抜去などの口腔外科的な処置を行う際に熟知しておくべき舌神経の走行経路, 分岐パターン, 舌内での分布, ならびに舌下神経との交通枝を肉眼解剖学的に明らかにすること. 【材料と方法】鹿児島大学歯学部解剖学実習に供された成人遺体 10 体の口腔顎顔面部位 20 側を使用した. 通法に従い頬骨弓および下顎枝・下顎体を摘出したのち, 翼突下顎隙から下顎体舌側部分において舌神経と鼓索神経の合流部位から舌神経の終枝までを肉眼的に剖出し, 経過中に分岐する側枝および舌神経と舌下神経の交通枝の走向を詳細に観察した. 【結果】舌神経の側枝は, 口蓋舌弓と下顎智歯に囲まれる口腔粘膜に分布する走向形態が全ての材料で観察され, 舌神経から分岐する側枝の数は 2~6 本であった. 側枝の分岐形態によってこれらを分類することができた. また舌神経は舌骨舌筋の前縁に達するよりも近位で舌下神経との最初の交通枝が分岐していた. さらに交通枝は, 舌体部と舌尖部でも形成されており, 全 3 か所で観察された. 【考察】舌神経の鼓索神経合流部から顎下神経節との交通枝の間で分岐する枝は「口峽枝」と呼ばれるが明確な分布域の定義はない. 今回の観察では口蓋舌弓と下顎智歯との間の口腔粘膜に分布し, 最も遠位の枝は臼後三角の粘膜に分布していた. 「口峽枝」の分布領域は広範に及び, 最終的な分布領域を考えると, この分岐は舌神経の「臼後枝」という位置付けが妥当であると考えられる. 舌神経と舌下神経外側枝の交通は舌外で, 舌下神経内側枝との交通は舌体および舌尖でみられ, これまでの報告と同様に舌下神経の外・内側枝の支配筋が舌骨舌筋原基由来の筋とオトガイ舌筋由来の筋に対応することが示唆された. このような舌神経の側枝や舌内における舌神経と舌下神経との交通枝の形態を知ることは, 口腔外科的処置における偶発症を防ぐためにも重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.

Branches of fauces and anastomoses with hypoglossal nerve of the lingual nerve

○Shimotakahara R, Mine K, Tamatsu Y

Dept Gross Anat Foren Dent, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent

This study revealed morphological information of the lingual nerve regarding the traveling route, branching pattern, and its distribution within the tongue. Twenty sides of Japanese cadaveric heads were obtained. The Lingual nerve from the merging point with the chorda tympani to the peripheral terminal in the tongue were observed. We focused on the collateral branches in the area before reaching the tongue, as well as the communication between the lingual and hypoglossal nerves that reached the tongue. The collateral branches of the lingual nerve were distributed in the oral mucosa between the palatoglossal arch and the region of mandibular molar. Two to six collateral branches arose from the main trunk of the lingual nerve, and the configuration of branching was classified into three types. More distally, the lingual nerve started to communicate with the hypoglossal nerve prior to passing the anterior border of the hyoglossus muscle. The nerve communications were also found in the main body and near the apex of tongue. Finding of the collateral branches in proximity to the tongue, as well as the communication with the hypoglossal nerve inside the tongue, will prevent functional disorders from oral surgical procedures associated with the lingual nerve.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-33 形態学的視点からみた筋一骨のインターラクシオン○山本 将仁¹, 石東 叡¹, 内藤 哲¹, 橋本 千明¹, 北村 啓², 阿部 伸一¹¹東歯大 解剖²東歯大 組織発生

筋と骨のインターラクシオンはそれぞれの組織が恒常性を保つために必要であり、筋機能を低下させると一定の期間を経て骨形態は変化し、筋の発生を阻害すると骨成長は抑制されることが知られている。しかしながら、骨形態の違いや変化が筋へ及ぼす影響についてはこれまでほとんど注目されてこなかった。そこで我々は、骨形態の相違が骨格筋へ与える影響を明らかにするために検索をおこなった。試料として、胎生 12.5, 15.5 日, 生後 0, 9 日の C57BL6J と BALB/cA マウスを用いた。通法に従いパラフィン包埋を行い、5μm にて連続切片を作製した。連続切片に対して H-E 染色を施し、Imaris を用いて 3D 立体構築を行った。また、作製した切片像から各種パラメータを計測し、得られた結果から C57BL6J と BALB/cA を比較検討した。また、生後の骨形態の変化が筋へ与える影響を明らかにするために、変形性関節症モデルマウスを用いて下顎頭を人為的に変形させ、周囲筋の形態変化を観察した。胎生期から成長期の 2 種のマウスの頭蓋において、中頭蓋窩(基蝶形骨+翼蝶形骨)の形態が著しく異なっていた。中でも基蝶形骨前方部は C57BL6J と BALB/cA において大きな形態差があるのに対して、基蝶形骨後方部の形態には大きな差はなかった。前方の基蝶形骨は口蓋帆帳筋の前方部と接しており、同部の筋は 2 種のマウスにおいて異なる成長曲線を示した。一方で後方の基蝶形骨周囲にある口蓋帆帳筋後方部は、C57BL6J と BALB/cA において同様の成長曲線を示した。また、成獣の顎関節の関節円板除去をおこなうと、下顎頭の変形が認められ、これに伴い周囲の筋形態も変化した。したがって、胎生期から生後における筋の発達過程は周囲の骨形態によって変化すること、また成獣の骨変化も周囲筋の形態へ影響を及ぼす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。**Impact of bone morphology on muscle**○Yamamoto M¹, Ishizuka S¹, Naito T¹, Hashimoto C¹, Kitamura K², Abe S¹¹Dept Anat, Tokyo Dent Coll²Dept Hist Dev Biol, Tokyo Dent Coll

Muscle loading is known to influence bone shape throughout the fetal period and during adulthood, but the corresponding impact of bone on muscle shape is poorly understood. The purpose of this study was therefore to investigate whether muscle shape is determined by bone. We hypothesized that differences observed in the shapes of part of the skull between C57BL6J and BALB/cA mice might alter prenatal and postnatal muscle development. The inferior spine of the hypophyseal cartilage, located medial to the anterior part of the tensor veli palatini muscle (TVP), differed greatly between the two mouse strains during prenatal and postnatal development. The hypophyseal cartilage or basisphenoid adjacent to the posterior TVP had a similar shape in both strains. The anterior TVP in C57BL6J mice had a growth curve different from that in BALB/cA mice, whereas the posterior TVPs showed almost the same growth curve in the two strains. After birth, the muscle shape was changed by adjacent bone deformation. In conclusion, the present study has demonstrated that muscle development in the prenatal period is dependent on bone shape, and that bone deformation occurring after birth causes a change in the shape of adjacent muscle.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-34 甲状腺濾胞におけるマクロファージとリンパ球の局在に関する組織学的研究

○内藤 哲, 山本 将仁, 阿部 伸一

東歯大 解剖

【目的】甲状腺炎によりマクロファージやリンパ球の浸潤がおこり、特に浸潤したリンパ球は、濾胞内よりはむしろ濾胞間の結合組織層に存在することが知られている。また近年、アポトーシスが甲状腺の維持や炎症の指標になることも明らかになってきた。しかしながら、年齢が若い実験動物や、中年層における手術中のパイオプシーからの研究が主体であり、高齢者甲状腺の組織学的な所見については不明な点が残されている。そこで今回我々は、献体における1. 甲状腺濾胞の大きさや密度, 2. マクロファージの集積, 3. リンパ球の浸潤を調査することで、高齢者甲状腺の特徴を明らかにすることを目的とした。【方法】試料として、東京歯科大学解剖学講座所蔵の献体（平均年齢：83歳）から切除した甲状腺を用い、5 μ mの連続切片を作製した。甲状腺における濾胞大きさや個数を観察するためにH-E染色を、マクロファージとリンパ球の局在を確認するために抗ヒトCD68抗体と抗ヒトCD8抗体を用い、免疫組織化学的染色をおこなった。【結果および考察】高齢者甲状腺を1枚の切片上で形態計測した結果、濾胞は合計2554-9910個含まれ、濾胞1つの面積は0.014-0.072 mm²であった。コロイド内では大きな円形のマクロファージが塊を形成しており、その濾胞周囲の組織には、弱い染色性を示すマクロファージの集積を認めた。一方、甲状腺腫様の構造物が数体の甲状腺から確認され、その中にはマクロファージはほとんど存在していなかった。したがって今回の研究結果から、マクロファージの集積している濾胞こそが正常に機能しているのではないかと考えられた。また、リンパ球の浸潤とマクロファージの集積が異なる位置に存在することから、マクロファージが関与して濾胞が消失した後に、リンパ球が二次的に出現する可能性があり、これは甲状腺における加齢変化の一過程を示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。

Macrophage infiltration into thyroid follicles: an immunohistochemical study using donated elderly cadavers

○Naitou T, Yamamoto M, Abe S

Dept Anat, Tokyo Dent Coll

To describe and discuss the morphology of the aged thyroid gland, with particular reference to the contribution of macrophages. With the aid of immunohistochemistry, we examined 1) macrophage accumulation, 2) infiltration of lymphocytes, and 3) the size and density of follicles in the unilateral lobe of the thyroid gland obtained from elderly donated cadavers (mean age, 84 years) without macroscopic malignancy. Each almost entire unilateral lobe of the thyroid showed 2554-9910 follicles per section, and each of the follicles ranged in area from 0.014-0.072 mm². We often found evidence suggesting absorption and fusion of follicles to provide a larger colloidal lumen, containing small follicles and/or epithelial fragments. In addition to dendritic perifollicular macrophages, large and round macrophages often formed clusters in the colloid. Colloidal lumina with weak macrophage immunoreactivity were intermingled with those showing strong reactivity. Notably, a greater number of macrophage foci in the colloid was usually associated with a lower density of perifollicular macrophages. Likewise, perifollicular macrophages were not always associated with lymphocyte infiltration.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-35 頸部における alpha-synuclein 含有感覚神経の分布と機能

○佐藤 匡¹, 矢島 健大¹, 島崎健一郎¹, 西谷登美子^{1,2}, 星加 知宏², 西谷 佳浩²,
市川 博之¹

¹東北大学 歯 口腔器官解剖

²鹿大 院医歯 歯科保存

alpha-synuclein はパーキンソン病で脳内の神経細胞に蓄積しレビー小体を形成することが知られている。昨年の第 60 回歯科基礎医学会学術大会において、正常ラットの迷走舌咽神経節や咽頭周囲における alpha-synuclein の分布を報告してきた。本研究では、ラットにおける免疫細胞と alpha-synuclein 陽性神経線維との関係について調べるために、蛍光染色法を用いて咽頭周囲組織を染色し、レーザー顕微鏡で確認した。一次抗体には alpha-synuclein・CD11b (マクロファージ・樹状細胞・B 細胞のマーカー)・transient receptor potential channel vanilloid subfamily type 2 (TRPV2: マクロファージ・樹状細胞のマーカー)・Toll-like receptor 4 (TLR4: alpha-synuclein のレセプター) に対する抗体を用い、2重或いは3重染色を行った。その結果、舌根を含む口腔と咽頭の境界部や喉頭の上部に多くのマクロファージや樹状細胞が観察されたが、B 細胞は比較的まれであった。これらの免疫細胞は、ほとんどすべて TLR4 を発現していた。さらに alpha-synuclein 陽性神経線維は TLR4 を有する免疫細胞の周囲に豊富に観察された。これらの神経線維の念珠状の終末はマクロファージや樹状細胞を取り囲んでいたが、B 細胞の周りにはほとんど見られなかった。つぎに、NR8383 マクロファージ細胞をもちいて細胞培養をおこない、alpha-synuclein を投与して、マイクロアレイ解析をおこなった。その結果、インターロイキン-6 の mRNA の発現が大幅に増加していた。これらの結果から、alpha-synuclein はインターロイキン-6 の発現を増加させることにより、炎症における液性免疫に関与していることが示唆された。また、本研究は、西條詩織 (東北大学) 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。

Distribution and function of alpha-synuclein in the rat cervical immune system

○Sato T¹, Yajima T¹, Shimazaki K¹, Nishitani T^{1,2}, Hoshika T², Nishitani Y², Ichikawa H¹

¹Div Oral Craniofac Anat, Tohoku Univ Grad Sch Dent

²Dept Restor Dent Endodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

alpha-Synuclein (Syn) belongs to the synuclein family which is unfolded soluble cytosolic protein. The toxicity of aggregated and misfolded Syn to neurons has been shown in Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases. Our recent study has also demonstrated that Syn is located in uninjured sensory neurons and their peripheral axons of the glossopharyngeal and vagus nerves. In this study, the relationship between Syn and immune cells was investigated by the confocal laser scanning microscopy. Many Syn-containing nerve fibers were seen surrounding macrophages and dendritic cells in rat oral, pharyngeal and laryngeal mucosae. However, B cells were mostly free of pericellular Syn-containing nerve fibers. We also examined an effect of Syn on the rat macrophage cell (NR8383) by DNA microarray analysis in vitro. Syn dramatically increased the level of mRNA for interleukin-6. These findings suggest that Syn may be associated with humoral immunity in inflammatory responses by regulating interleukin-6 expression.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-36 顎関節部の器質的変化をもたらす周囲組織への影響

○石束 穀^{1,3}, 四ツ谷 護^{2,3}, 山本 将仁^{1,3}, 阿部 伸一^{1,3}

¹東歯大 解剖

²東歯大 クラウンブリッジ

³東歯大 研究ブランディング事業

変形性顎関節症は顎関節症の病態の一つに分類され、顎関節や咀嚼筋の疼痛、関節雑音、開口障害あるいは顎運動異常を主要症候とすることで知られている。その罹患率は高齢者で増加するという報告もあり、超高齢社会を迎えた日本においては今後その罹患率は上昇していくことが推察される。近年、マウスの関節円板を人為的に切除することにより下顎頭に関節軟骨の減少や形態の変化といった器質的変化が生じることが明らかになっている。しかしながら、下顎頭の病的な器質的変化が外側翼突筋やその腱といった周囲組織へどのような影響を与えるのかは不明な点が残されている。そこで我々は関節円板を切除することで変形性顎関節症モデルマウスを作出し、下顎頭の病的な器質的変化が外側翼突筋やその腱に与える影響について検索した。試料はc57BL/6J マウス(生後3ヶ月齢)を用いた。マウス耳前部に切開を加え、関節円板を切除した後に閉創した。術後8週から16週の間で2週間毎に屠殺し、 μ -CTを撮影した後、顎関節部を一塊として摘出した。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。円板切除後8週から16週にかけて、コントロール群と比較して下顎窩および下顎頭においてサフランin Oへの染色性は経時的に増加傾向を示した。また、下顎頭の肥大が見られ、さらに下顎頭と下顎窩との境界が不明瞭であった。同時に、下顎頭に付着する腱の不正とそれに連続する外側翼突筋の萎縮が認められた。今回の結果より下顎頭の病的な器質的変化が周囲組織へと有害な影響を及ぼし、それに伴い筋痛や開口障害といった顎関節症症状が引き起こ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。

Influence of pathological changes of the temporomandibular joint on surrounding tissues

○Ishizuka S^{1,3}, Yotsuya M^{2,3}, Yamamoto M^{1,3}, Abe S^{1,3}

¹Dept Anat, Tokyo Dent Coll

²Dept Fixed Prosthodont, Tokyo Dent Coll

³Tokyo Dent Coll, Research Branding Project

It is well known that pathological changes such as reduction of articular cartilage occur in the mandibular condyles after artificial removal of the articular disc of the temporomandibular joint (TMJ), a procedure referred to as discectomy. However, the issue of how these changes affect surrounding tissues has remained unclear. In this study, we removed the articular disc of the TMJ and investigated the effects of changes in the mandibular condyles on the lateral pterygoid muscle and its tendon. Safranin O staining demonstrated that the stained area in the mandibular fossa and mandibular condyles increased from 8 to 16 weeks after discectomy relative to sham controls. After discectomy, the mandibular condyle increased in size and the boundary between the mandibular fossa and the mandibular condyle became unclear. At the same time, the tendon attachment to the mandibular condyles showed alignment irregularity and the lateral pterygoid muscle became atrophic. These results suggest that pathological changes in the mandibular condyles have harmful effects on surrounding tissues, potentially leading to symptoms of temporomandibular disorder such as muscle pain and masticatory disturbance.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-37 成体イモリ下顎組織の再生過程での形態学的解析

○川本沙也華, 田谷 雄二, 佐藤かおり, 添野 雄一

日歯大 生命歯 病理

【目的】両生類であるイモリは四肢や尾などさまざまな組織や臓器が再生することで知られている。顎も再生することが報告されているが、その詳細は不明な点が多い。本研究では、イモリ下顎組織の再生過程でみられる形態学的変化について検討した。【方法】在来種である成体アカハライモリ (*Cynops pyrrhogaster*) は全身麻酔下で下顎前方より約 1/2 を切除した。X線マイクロトモグラフィー(以下、マイクロCT), ならびに組織学的な手法を用いて、切除から0~30週間にわたり下顎組織が再生していく過程を経日的に観察した。【結果と考察】切除から1週間後には傷口は上皮により被覆されており、3週間後では切除断端部は丸みを帯びてくるとともに、上皮下に半透明の組織が観察された。10週間後には創傷は治癒しており、下顎の長さは切断前よりいまだ短い下顎としての形状を成して前方へと伸長しているのが観察された。24週間後になると、下顎は切断前とほぼ同じ長さにまで伸長し、外観的には再生が完了していた。ただし、マイクロCTによる解析では、24週間後でも下顎骨の再生は進行している途上であり、30週間後でも下顎骨の先端部では未だ完成には至っていなかった。組織学的な所見として、下顎骨の再生にともなって、歯胚の形成がおこり、エナメロイドや象牙質に相当する歯質の形成も認められた。【結論】今回の解析から、成体アカハライモリの下顎は、歯や下顎骨、血管などの多様な組織で構成されているにもかかわらず高度な再生能力を有しており、その再生過程を確かめることができた。本研究はJSPS 科研費 #18H04061 の助成を受けた。会員外共同研究者：筑波大学・生命環境系 千葉親文、慶応義塾大学・医学部 貴志和生、石井龍之。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Morphologic analysis in regenerating jaw of adult newt

○Kawamoto S, Taya Y, Sato K, Soeno Y

Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

Objectives: It is known that some newts can completely regenerate various tissues and organs. The details how the jaws are regenerated in newts remain almost unclear. In this study, we investigated the morphologic changes to be seen in the regenerative process of newt jaws. Methods: The adult newts, which Japanese local variety, were amputated the anterior one-half of lower jaws under the general anesthesia. We analyzed chronologically the morphologic changes of the regenerating jaws after amputation during 0-30 weeks according to microCT and histological approaches. Results: The regenerative changes of jaws occurred in all newts amputated. The wound was covered by the epithelium after 1 week. The amputation stump became roundish after 3 weeks. The wound healing was achieved and the regenerative jaw was growing anteriorly after 10 weeks. Finally, the lower jaw was recovered completely (e. g. length, size, and shape) after 24 weeks macroscopically. In the 3D analysis using microCT, however, the mandibular bones were still under regeneration at 30 weeks. With the regenerative progression of mandibular bones, the enameloid and dentin of teeth were formed. Conclusion: We confirmed that the jaw of adult newts was the highly regenerative, which the teeth, mandibular bones and the others were recovered.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-38 マウス顎顔面発生における舌下神経軸索と舌筋細胞系譜との相互作用

○田谷 雄二¹, 佐々木康成², 堀江 哲郎³, 佐藤かおり¹, 添野 雄一¹

¹日歯大 生命歯 病理, ²神奈川こども医療セ 臨床研 歯科, ³日歯大 生命歯 共同研

【目的】舌運動のためには舌下神経と舌筋が連結していることが必要であり、胎生期に舌下神経軸索が舌組織の正確な部位まで伸長していることが前提となる。舌下神経の軸索は後頭神経核から起始して長い距離を伸長して遠隔の舌原基まで到達する。本研究では、マウス胎仔顎顔面領域での舌下神経の軸索伸長に対する舌筋細胞系譜との関連性について検討した。【方法】ICR マウス胎仔(胎生 9.5~14.5 日)から連続薄切切片を作製し、神経軸索(GAP43)・筋系譜細胞(Desmin)に対する特異抗体による免疫二重染色を施し、組織空間における神経軸索と舌筋前駆細胞集団の局在を同定した。軸索誘導に関わる候補因子を同定するために、同時期の下顎突起試料の DNA マイクロアレイならびにリアルタイム PCR による遺伝子発現の解析を行った。【結果と考察】舌筋前駆細胞集団は胎生 9.5 日前後に後頭体節を発して体幹と第 2-4 鰓弓の側方部を個々に遊走し、胎生 10.5 日にその先頭集団は下顎突起正中部に到達するが、最後尾ははまだ後頭体節付近であり長い行列を成していた。一方、舌下神経軸索は胎生 10.5 日に後頭神経核から伸長し、体幹側方部で舌筋前駆細胞集団と合流、同細胞集団に囲まれながら追走して胎生 11.5 日に下顎突起の舌原基直下に到達した。遺伝子解析から胎生 10.5~11.5 日にかけて顕著な発現上昇を示す *Cxcr4*, *Netrin1*, *Ngfr* が神経ガイダンスの因子候補として抽出された。これらの因子のうち、*Cxcr4* の組織内局在は、一部の神経軸索と舌筋細胞、ならびに舌筋細胞集団周囲の血管に陽性反応がみられ、*Cxcr4* のリガンドである *Cxcl12* は軸索内の単核細胞と舌筋細胞に陽性反応がみられた。以上のことから、舌下神経軸索は舌形成や舌筋分化より以前に、移住途上の舌筋前駆細胞とのガイダンス因子を介した相互作用により正確な伸長を遂げることが示唆された。本研究は JSPS 科研費 #18K09530 の助成を受けた。【利益相反】利益相反状態にはありません。

Interaction of hypoglossal neuroaxis with tongue myogenic cells in mouse craniofacial development

○Taya Y¹, Sasaki Y², Horie T³, Sato K¹, Soeno Y¹

¹Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

²Dept Dent, Kanagawa Child Med Cent, Yokohama

³Res Cent Odontol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

Objectives: The hypoglossal neuroaxes were elongated from occipital motor nuclei to the tongue primordium in the mandibular arches during craniofacial development. In this study, we investigated the interaction of hypoglossal neuroaxis with tongue myogenic cells. Methods: ICR mouse embryos from E9.5-14.5 were used to collect the tissues in the craniofacial region. Gene expression profiling was performed using DNA microarray, and was validated by qPCR and immunohistochemistry. Results: The tongue myogenic cells individually migrated away from occipital somites at E9.5. The leading group of these cell streams arrived at the middle of mandibular arches through the ventral areas of the trunk and branchial arches at 10.5. In parallel, the hypoglossal neuroaxes started to elongate from occipital motor nuclei at E10.5, and reached the tongue primordium of the mandibular arches at E11.5. The migrating route of myogenic cells and hypoglossal neuroaxes overlapped each other. The gene expression analysis identified the cues of axon guidance, *Cxcr4*, *Netrin*, and *Ngfr*. Indeed, *Cxcr4* was localized the hypoglossal neuroaxes and tongue myogenic cells. *Cxcr4*-ligand *Cxcl12* was localized the tongue myogenic cells. Conclusion: The hypoglossal neuroaxes might interact with tongue myogenic cells before the formation of tongue and the differentiation of its muscle. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

P3-39 筋における High mobility group box 1 (HMGB1) の働き

○崎山 浩司¹, 小笠原悠大^{1,2}, 小野澤 豪^{1,3}, 長坂 新¹, 坂東 康彦¹, 天野 修¹

¹明海大 歯 解剖

²明海大 歯 口腔顎顔面外科 2

³明海大 歯 口腔顎顔面外科 1

【目的】 High mobility group box 1 (HMGB1) は、細胞の核内に存在するタンパク質であり、転写を調節することで生体の恒常性の維持に関与していることが知られている。我々はこれまでマウスの舌に癌細胞を移植した際に、舌癌周囲の筋に与える影響について検索を行った。その結果、癌細胞と癌細胞周囲の壊死した筋細胞だけでなく遠位の筋線維においても HMGB1 が強く発現することを確認した。また一方で、癌細胞によって筋線維が一度破壊された部位では筋が再生してくるが、再生した筋線維およびその領域で HMGB1 の発現が認められた。このことから HMGB1 は筋の再生にも関与するのではないかと示唆された。筋線維が再生するとされる筋ジストロフィーモデルマウス (mdx マウス) を用いて壊死した筋線維が再生する過程で HMGB1 がどのように影響を与えているかを検索することを目的とした。【方法】実験動物には、筋ジストロフィーモデルマウスである C57BL/10-mdx マウス (mdx マウス) と対照群である C27BL/10-SCN マウス (B10 マウス) を用いた。試料は生後 3 週齢, 4 週齢, 5 週齢および 8 週齢のそれぞれのマウスの咬筋を用いた。凍結連続切片を作製後, HMGB1 と筋衛星細胞のマーカーである Pax7, 筋の発生初期に発現する MyoD について免疫組織化学的染色を施し観察を行った。【結果および考察】抗 HMGB1 抗体で免疫組織化学的染色を施した切片は, 3 週齢では壊死した筋線維に, 4 週齢では再生筋で強く発現した。筋衛星細胞マーカーである抗 Pax7 抗体は, 壊死した筋線維では発現がみられなかったが, 正常な筋線維ならびに再生した筋線維の周囲に強く発現した。以上より, HMGB1 は壊死だけでなく筋の再生にも強く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。

The role of high mobility group box 1 (HMGB1) in myofibers

○Sakiyama K¹, Ogasawara Y^{1,2}, Onozawa G^{1,3}, Nagasaka A¹, Bando Y¹, Amano O¹

¹Div Anat, Meikai Univ Sch Dent

²Div Second Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch Dent

³Div First Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch Dent

High mobility group box 1 (HMGB1) exists in the nucleus of all normal cells being involved in homeostasis. We investigated the localization of HMGB1 in the carcinoma and myofibers adjacent and distal to the carcinoma. Furthermore, HMGB1 was expressed in regenerating myofibers where myofibers were destroyed by the carcinoma. The objective of this study is to clarify roles of HMGB1 in the process of myofiber regeneration after the muscular dystrophy. C57BL/10-mdx mice were used as the muscle dystrophy model mouse. Mice were observed at the age of 3, 4, 5 and 8 weeks. Anti-HMGB1, Anti-Pax7 and Anti-MyoD antibodies were applied for immunohistochemistry. Anti-Pax7 and Anti-MyoD antibodies were used for the marker of muscle satellite cells. HMGB1 was expressed in necrotic and repaired myofibers at the age of 3 and 4 weeks. Further, Pax7 was expressed in surrounds of normal and repaired myofibers, but not expressed in necrotic myofibers. Therefore, HMGB1 was suggested to induce regeneration of muscles.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-40 口蓋癒合におけるメカノセンサーイオンチャネルの発現

○本田 裕子, 田原 愛理, 大崎 康吉, 曹 愛琳, 高 イキ, 西田 寛汰, 内野 加穂,
吉本 怜子, 城戸 瑞穂

佐賀大 医 組織・神経解剖

【目的】頭頸部に認められる最も頻度の高い先天異常である口蓋裂は、呼吸・哺乳・咀嚼・嚥下などの生命維持に関わる機能に障害を伴うことから、口蓋形成のメカニズムの解明は重要な課題である。口蓋形成過程では、口蓋突起の挙上や伸長、癒合など多様な力学的挙動が見られるが、力学的な刺激をどのように受容しているのかについて十分理解されていない。近年、メカノセンサーとして同定されたイオンチャネルの遺伝子変異を伴うヒトは、口蓋裂の発生頻度が高いことが報告された。そこで、私たちは、マウス口蓋癒合におけるメカノセンサーイオンチャネルの発現動態を解析し、口蓋癒合への関与を明らかにすることを目的とした。【方法】胎生 13.5, 14.5, 15.0, 15.5 日齢の C57BL/6 マウスを 4% パラホルムアルデヒドにて浸漬固定後、in situ hybridization 法および免疫組織染色を行い、マウス口蓋におけるメカノセンサーイオンチャネルおよび関連分子の発現と分布について解析した。【結果と考察】口蓋癒合過程において部位および時期特異的にメカノセンサーイオンチャネルが発現しており、癒合前後には特徴的な発現を示した。さらに、細胞移動や接着など力学的な挙動に関わると考えられるアクチンフィラメントや非筋ミオシン II と関連していた。これらのことから、メカノセンサーイオンチャネルが口蓋癒合過程において力学的な刺激を感知し、口蓋突起癒合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。

Mechanosensitive ion channels in mouse palatal fusion

○Honda Y, Tabaru A, Ohsaki Y, Cao AL, Gao WQ, Nishida K, Uchino K, Yoshimoto R,
Kido M

Dept Anat and Physiol, Saga Med Sch

Purpose: Cleft palate is one of the most frequent congenital anomalies in craniofacial development. Palatal fusion is the mechanical event, such as vertical outgrowth, elevation, horizontal outgrowth and fusion, however, the mechanisms are not well understood. Recently, Piezo channel gene mutation has been reported to be associated with cleft palate. We aimed to analyze the expression and distribution of mechanosensitive molecules during palatal fusion. Materials and Methods: C57BL/6 mouse embryos were fixed with 4% paraformaldehyde in phosphate buffered saline overnight. Palatal shelves were processed for in situ hybridization and immunohistochemistry. Results and Conclusion: Mechanosensitive ion channels were expressed in palatal shelves and showed characteristic expression during palatal fusion with special association with actomyosin. It is suggested that mechanosensitive ion channels play a part in the process of palatal fusion.

Conflict of Interest: The authors declare no competing interests.

P3-41 唾液腺支配のラット上唾液核ニューロンに対する摂食亢進ペプチドの影響

○美藤 純弘¹, 佐藤 匡², 藤田 雅子¹, 小橋 基¹, 市川 博之², 吉田 竜介¹

¹岡大 院医歯薬 口腔生理

²東北大 院歯 口腔器官構造

【目的】多くの動物で摂食中に豊富な唾液分泌が起こることが知られている。そこで我々は、摂食亢進ペプチドは摂食を引き起こすと同時に唾液分泌も誘発するという仮説を立てた。本研究では、顎下腺・舌下腺分泌を制御する副交感神経の一次中枢である上唾液核 (SSN) ニューロンの摂食亢進ペプチドに対する反応性を検討した。【方法】Wistar 系幼若ラットで、逆行性に蛍光標識した SSN ニューロンからホールセルパッチクランプ法により記録した。検討した摂食亢進ペプチドは、中枢で産生される 10 種類のペプチドを用いた (オレキシン, メラニン凝集ホルモン, ニューロペプチド Y, グレリン, アグーチ関連タンパク, ピログルタミン化 RF アミドペプチド, 成長ホルモン放出因子, ガラニン, ダイノルフィン A, β -エンドルフィン)。また、成熟ラットの SSN ニューロンに発現するオレキシン受容体を免疫組織化学的に検討した。【結果と考察】検討したペプチドのうち、オレキシンだけが SSN ニューロンを興奮させた。つまり静止膜電位でオレキシンを投与すると脱分極し、 -70 mV で内向き電流を発生した。この電流はオレキシン受容体 1 または 2 のアンタゴニストにより抑制された。また SSN ニューロンはオレキシン受容体 1 および 2 に対する免疫活性を示した。ランプ電位を与えたときの電流-電圧関係を検討したところ、オレキシンは入力抵抗を増加したので、この興奮作用には K^+ チャネルの閉鎖が関与することが示唆された。一方、微小興奮性シナプス後電流の発生頻度はほとんどのニューロンで変化しなかった。従って、オレキシンは、シナプス前膜に対する作用は少なく、主にシナプス後膜のオレキシン受容体を刺激することによって SSN ニューロンの興奮性を促進すると考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effects of appetite-boosting peptides on the superior salivatory nucleus neurons innervating the salivary glands in rats

○Mitoh Y¹, Sato T², Fujita M¹, Kobashi M¹, Ichikawa H², Yoshida R¹

¹Dept Oral Physiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

²Div Oral Craniofac Anat Tohoku Univ Grad Sch Dent

Abundant salivation occurs during feeding in various animals. We hypothesized that appetite-boosting peptides inducing feeding may also increase salivation. Here, we examined responsiveness of neurons in the superior salivatory nucleus (SSN), which is the primary parasympathetic center for the submandibular and sublingual salivary glands, to appetite-boosting peptides in neurons. In neonatal Wistar rats, whole-cell patch-clamp recordings were performed from SSN neurons retrogradely labeled with a fluorescent tracer. Ten appetite-boosting peptides, which are produced in the central neurons, were examined. Among peptides tested, only orexin excited SSN neurons. Orexin induced depolarization in SSN neurons from the resting membrane potential and inward currents at -70 mV in the presence of tetrodotoxin. The current responses were inhibited by antagonists for OXR1 and OXR2. SSN neurons were immunoreactive to OXR1 and OXR2. In the current-voltage relationships, orexin increased the input resistance of the neurons, suggesting involvement of closure of potassium channels. The frequency of miniature excitatory postsynaptic currents scarcely increased. These results indicate that orexin promotes excitability of SSN neurons mainly by stimulating orexin receptors on the postsynaptic membrane, but not on the presynaptic membrane. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

P3-42 盲腸における短鎖脂肪酸の吸収とラット唾液中 IgA 分泌速度の関連

○山本 裕子¹, 猿田 樹理², 東 雅啓², 坂口和歌子², 槻木 恵一²

¹神歯大 短期 歯科衛生

²神歯大 院歯 口腔科学

【目的】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。本研究では、盲腸内容物中短鎖脂肪酸濃度の減少が報告されているポリデキストロースを用いて、唾液中 IgA 分泌速度増加の原因は盲腸内容物中の短鎖脂肪酸か、あるいは盲腸から吸収された短鎖脂肪酸であるかを検討した。

【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、4.0% ポリデキストロース (PDX) を添加した飼料を調整した .4 週齢ラットを 1 週間予備飼育後に、各飼料を自由摂取させた .4 週後に盲腸組織、盲腸内容物、門脈血、顎下腺、唾液を採取した。唾液中の IgA 濃度は ELISA 法にて測定した。盲腸内容物と門脈血は短鎖脂肪酸濃度を測定した。また、盲腸組織重量および盲腸内容物の水分含量を測定した。【結果】唾液中 IgA 分泌速度は、無繊維群と比較して PDX 群で高値が認められた ($p=0.001$)。盲腸内容物中短鎖脂肪酸濃度は、無繊維群と比較して PDX 群で低値が認められたが ($p=0.008$)、門脈血中短鎖脂肪酸濃度は PDX 群で高値が認められた ($p=0.004$)。また、門脈血中短鎖脂肪酸濃度と唾液中 IgA 分泌速度には強い正の相関が認められた ($r_s=0.9$, $p=0.0002$)。門脈血中短鎖脂肪酸濃度と盲腸組織重量・盲腸内容物水分量との間にも正の相関が認められた ($r_s=0.7$, $p=0.006$ ・ $r_s=0.6$, $p=0.03$)。【考察】唾液中 IgA 分泌速度の増加には、門脈血短鎖脂肪酸濃度が関わっていることが示唆された。すなわち、盲腸からの短鎖脂肪酸の吸収が唾液中 IgA 分泌速度を高めている可能性がある。一方で、PDX 添加による盲腸内容物中短鎖脂肪酸濃度の減少と門脈血中短鎖脂肪酸濃度の増加は、盲腸での短鎖脂肪酸の吸収速度が速いことを示している。短鎖脂肪酸の吸収速度には、盲腸組織重量と盲腸内容物水分量が関与し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。

Salivary IgA flow rate is associated with short-chain fatty acid absorption from the cecum in rats

○Yamamoto Y¹, Saruta J², To M², Sakaguchi W², Tsukinoki K²

¹Dept Jr Coll, Kanagawa Dent Univ Sch Dent Hygiene

²Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

We have previously shown that salivary Immunoglobulin A (IgA) flow rate is positively correlated with the concentration of short-chain fatty acid (SCFA) in the cecal digesta. In this study, we investigated the relationship between salivary IgA flow rate and SCFA absorbed from the cecum following polydextrose (PDX) ingestion. Five-week-old rats were fed a fiber-free diet (control group) or a diet with 40 g/kg PDX (PDX group) for four weeks. Ingestion of PDX led to a higher IgA flow rate in saliva ($p=0.001$) and portal blood SCFA concentration ($p=0.004$). Notably, the SCFA concentration in the cecal digesta was lower in the PDX group as compared to the control group ($p=0.008$). Further, a strong positive correlation between portal blood SCFA concentration and salivary IgA flow rate ($r_s=0.9$, $p=0.0002$, $n=12$) was observed. These results suggest that increase in salivary IgA flow rate may be associated with the portal blood concentration of SCFA absorbed from the cecum, but not with the SCFA concentration in cecal digesta.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-43 カルバコールにより誘発される顎下腺水分泌の細胞外グルコース濃度依存性

○杉田 誠, 北川 道憲

広大院医系 口腔生理

顎下腺では副交感神経作動薬の carbachol 刺激により水分泌が誘発される。carbachol 刺激は細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させ、腺腔側の Ca^{2+} 依存性 Cl^- チャネルを開口させる。 Ca^{2+} 依存性 Cl^- チャネルを介する細胞内から腺腔への Cl^- 分泌が水分泌の駆動力として働く。持続的に Cl^- ・水分泌を引き起こすためには、基底側方膜に局在する $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ 共輸送体の働きが必須であり、 $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ 共輸送体を介して細胞内に輸送された Cl^- が、 Ca^{2+} 依存性 Cl^- チャネルを介して腺腔側に分泌される。一方、糖尿病患者では唾液分泌量の減少が観察されるが、分泌量が減少する機序には不明な点が多い。本研究では摘出顎下腺の灌流標本での唾液分泌速度測定、および分離腺房細胞での細胞内カルシウム濃度解析とグラミシジン穿孔パッチクランプ解析を用い、carbachol 刺激により誘発される水分泌における細胞外グルコース濃度依存性を検証し、その依存性が生じる機構を明らかにすることを目的とした。carbachol 刺激は顎下腺より持続的な水分泌を引き起こしたが、その分泌速度は細胞外グルコース濃度に依存して変化した。細胞外グルコース濃度が 2.5~5 mM の時に水分泌速度はピーク値を示し、それよりグルコース濃度を減少させた場合にも上昇させた場合にも水分泌速度は減少した。また phlorizin の投与により Na^+ -グルコース共輸送体 SGLT1 を阻害した場合にも水分泌は抑制され、SGLT1 を介する腺房細胞内へのグルコース取り込みは水分泌を維持するためにリアルタイムで必要とされることが示唆された。低グルコースは Ca^{2+} 依存性 Cl^- チャネルを介する Cl^- 分泌を抑制することにより水分泌を抑制し、高グルコースは Cl^- 分泌抑制を引き起こさず Ca^{2+} シグナルの下流の別分子に作用し、水分泌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。

Effect of extracellular glucose concentration on carbachol-induced fluid secretion from submandibular glands

○Sugita M, Kitagawa M

Dept Physiol Oral Physiol, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci

The cholinergic agonist carbachol stimulates fluid secretion in submandibular glands. Carbachol induces an increase in $[\text{Ca}^{2+}]_i$ to open apically-located Ca^{2+} -activated Cl^- channels. Fluid secretion is driven by the apical exit of Cl^- through the channels, while Cl^- enters the cytoplasm via a $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ cotransporter. Although xerostomia is observed in diabetic patients, it remains elusive how salivary secretion is impaired in diabetes. Here we combined an ex vivo submandibular gland perfusion technique with $[\text{Ca}^{2+}]_i$ measurement and gramicidin-perforated patch recording from isolated acinar cells to characterize the dependency of salivary flow rates on extracellular glucose concentration and to clarify its underlying mechanism. Carbachol induced sustained fluid secretion. The rates of CCh-induced fluid secretion were modulated dependent on extracellular glucose concentration. The CCh-induced fluid secretion represented the peak value in the presence of 2.5-5 mM extracellular glucose. Both lowering and elevating the extracellular glucose concentration decreased the CCh-induced fluid secretion. Phlorizin, a sodium-glucose cotransporter 1 (SGLT1) inhibitor, suppressed the CCh-induced fluid secretion, suggesting that SGLT1-mediated glucose uptake in acinar cells is required to sustain Cl^- and fluid secretion in real-time. Low and high extracellular glucose may suppress the CCh-induced fluid secretion by affecting the activities of distinct molecules downstream of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ signals.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-44 ラット三大唾液腺の血流動態に与える体性感覚と味覚入力の効果の違い

○佐藤 寿哉, Ramadhani Ratna, 三戸 浩平, 石井 久淑

北医療大 歯 生理

【目的】唾液の水成分は血漿に由来するため唾液腺の血流動態は唾液分泌に重要であると考えられている。我々は是までに口腔顔面領域の感覚神経の求心性電気刺激により大唾液腺において副交感神経性血管拡張反応が誘発されることを報告している。この反応は唾液腺に急峻な血流増加反応を起こすことから唾液腺の血流調節における重要性が示唆されている。三大唾液腺の相対分泌比は機械刺激や味刺激などの条件により変化することが知られており、唾液腺の血流動態も唾液分泌と協調して感覚入力の違いに応じた調節が成されると推測されるが、その詳細は明らかにされていない。そこで本研究では感覚入力の種類と三大唾液腺で誘発される副交感神経性血管拡張反応の関係を明らかにするために、ラットの下歯槽神経（体性感覚）および舌神経（体性感覚及び味覚）の電気刺激時の大唾液腺の血流動態を記録し検討した。【方法】ラットはウレタン麻酔後、ロクロニウムで非動化し、人工呼吸下で管理した。大腿動脈と静脈にカテーテルを挿入し、体幹血圧測定と薬物投与に用いた。頸部交感神経幹と迷走神経は頸部で両側とも切断しその影響を排除した。下歯槽神経および舌神経を求心性に電気刺激し、2次元血流計を用いて三大唾液腺の血流動態を記録した。【結果および考察】下歯槽神経および舌神経刺激により三大唾液腺では刺激頻度依存性の血流増加反応が誘発された。またこれら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の静脈内投与により著しく抑制された。唾液腺の血流増加反応は下歯槽神経刺激では耳下腺で最も高く、舌神経刺激では顎下腺で最も高かった。したがって、唾液腺の副交感神経性血流増加反応の大きさは感覚入力の種類で異なる可能性が示され、これらの違いが種々の環境下における三大唾液腺の相対分泌比の違い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。

Difference between somatosensory and gustatory input on hemodynamics in rat three major salivary glands

○Sato T, Ramadhani R, Mito K, Ishii H

Div Physiol, Dept Oral Biol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Salivary gland hemodynamics play an important role in salivation. Previously, we demonstrated that parasympathetic vasodilation in rat salivary glands was evoked by orofacial sensory input. The relative secretion rate of the three glands depends on the type of sensory input such as somatosensory or gustatory input, and it is assumed that the glandular hemodynamics are also regulated in harmony with regulation of salivation. However, regulatory details remain unclear. To clarify the relationship between type of sensory input and parasympathetic vasodilation in glands, we analyzed the glandular hemodynamics during electrical stimulation of the inferior alveolar nerve (IAN; somatosensory input) or lingual nerve (LN; somatosensory and gustatory input) in urethane-anesthetized rats. IAN or LN stimulation induced frequency-dependent blood flow increases in three glands, and the increases were significantly inhibited by the autonomic ganglion blockade. The increase evoked by IAN stimulation was the highest in the parotid gland, and that evoked by the LN stimulation was the highest in the submandibular gland. Therefore, our results indicate that there was difference between somatosensory and gustatory input in magnitude of the parasympathetic vasodilation in glands, and suggest that these difference would be related in the difference in relative secretion rate of three glands.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-45 Cdc42 は *in vivo* でマウス唾液腺の分泌顆粒の形態を制御する

○設楽 彰子, 柏保 正典

朝日大 歯 歯科薬理

第 61 回歯科基礎医学会学術大会において我々は、生きたマウスの唾液腺において低分子量 G タンパク質であり RhoGTPase の一種である Cdc42 が顎下腺腺房細胞の腺腔側膜のホメオスタシスを制御することを発表した。その後の生体内顕微鏡を用いた解析から、Cdc42 は負にエンドサイトーシスを制御することおよび、Cdc42 のノックアウトにより細胞膜の成分が細胞内小胞に誤って輸送されることを明らかにした (Shitara et al., Molecular biology of the cell, 2019)。本研究では透過電子顕微鏡を用いた解析から、Cdc42 のノックアウトが分泌顆粒の微細構造にも影響を与えることを見出したので報告する。通常分泌顆粒は腺房細胞の腺腔側領域に局在するが、Cdc42 を欠損した腺房細胞では分泌顆粒が細胞質全体を占有していた。分泌顆粒の数はコントロールの細胞の約 2 倍に増加し、大きさが減少した。分泌顆粒の形態は円形度が有意に減少し、不均一であった。一部の顆粒内部にはコントロールの細胞には認められない、多様な電子密度を持つ円形の構造物が観察された。これらの結果から外分泌腺において、Cdc42 は分泌顆粒の生合成または成熟を制御するという新たな役割を持つことが示された。Cdc42 は細胞内輸送や細胞骨格の制御において重要な役割を果たす分子であり、これらは分泌顆粒の生合成や成熟にも関与することが知られている。今後はこれらの機能の解析を通して、Cdc42 による分泌顆粒の制御のメカニズムを明らかにする予定である。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Cdc42 controls secretory granules morphology in rodent salivary glands *in vivo*

○Shitara A, Kashimata M

Dept Pharma, Asahi Univ Sch Dent

We previously reported that the small GTPase Cdc42 negatively regulates endocytosis in the salivary gland of live mice. By using intravital subcellular microscopy, we showed that depletion of Cdc42 causes the mis-sorting of plasma membrane components into intracellular vesicles, ultimately leading to the impairment of the homeostasis of the apical plasma membrane. In this study, we report that, in addition, Cdc42 depletion alters the ultrastructure of large secretory granules analyzed by transmission electron microscopy. We found that lack of Cdc42 increases the number of granules per cell and alters their structure. Specifically, granules are smaller, less circular and exhibit heterogenous electron densities in their lumen. Our findings suggest a novel role for Cdc42 in controlling granule biogenesis and/or maturation.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-46 マウスアミノ酸受容体 *Tas1r1* 遺伝子における転写因子 Myod1 の機能解析

○豊野 孝¹, 松山 佳永¹, 片岡 真司¹, 中富 満城¹, 細川 隆司², 瀬田 祐司¹

¹九歯大 歯 健康増進 解剖

²九歯大 口腔再建リハビリ

マウス *Tas1r1* 遺伝子は筋芽細胞株 C2C12 において発現しており, C2C12 の筋管細胞への分化過程においてその発現量が増加することが明らかになっている. しかしながら, *Tas1r1* 遺伝子の分化過程における転写調節機構は明らかになっていない. そこで C2C12 の分化において重要な役割を果たしている転写因子 Myod1 に着目し, *Tas1r1* 遺伝子の転写調節における Myod1 の機能解析を行った.

ENCODE データベース中の C2C12 のクロマチン免疫沈降シーケンス (ChIP-seq.) データを用いてマウス *Tas1r1* 遺伝子における, Myod1 の結合領域の検索を行った. その結果, *Tas1r1* 遺伝子の開始コドン周辺において, 2ヶ所の結合領域の存在が明らかになった. この結合領域中には, Myod1 の結合配列である E box (CANNTG) が, 3ヶ所 (E1, E2, E3) 認められた. さらに, E1 においては, マウス, ヒト, ウマおよびウシにおいてその配列が進化的に保存されていた. これらの E box に変異を導入したレポータープラスミドを作成し, C2C12 を用いてレポーターアッセイを行った. その結果, E1 および E3 に変異を導入したプラスミドにおいてレポーター活性の低下が認められた. 次に, 発現プラスミドを用いて Myod1 を C2C12 で過剰発現させたところ, *Tas1r1* の転写量が増加することが定量リアルタイム PCR 法により明らかになった.

以上の結果より, *Tas1r1* 遺伝子の開始コドン周辺に存在する E1 および E3 に, Myod1 が結合し, *Tas1r1* 遺伝子の転写の活性化に働いている可能性が推察された.

共同研究者: 九州歯科大学口腔再建リハビリテーション学分野 帯金 惟

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Myod1 activates expression of mouse T1R1 amino acid receptor gene (*Tas1r1*) in C2C12 myoblast cells

○Toyono T¹, Matsuyama K¹, Kataoka S¹, Nakatomi M¹, Hosokawa R², Seta Y¹

¹Div Anat, Dept Health Improv, Kyushu Dent Univ

²Div Oral Reconstruct Rehabil, Kyushu Dent Univ

T1R1 and T1R3 are receptors expressed in the mouse myoblast cell line, C2C12 and are thought to function as amino acid sensors. However, the mechanism of transcriptional regulation of the T1R1 gene (*Tas1r1*) has not been determined; therefore, in this study, we examined the function of *Tas1r1* promoter in C2C12 cells. The ENCODE data of chromatin immunoprecipitation and sequencing (ChIP-seq.) showed that Myod1 bound to the surrounding region of *Tas1r1* start codon during the myogenic differentiation. The E box (CANNTG) is the binding motif for Myod1. This binding region included three E boxes (E box1-3). The E box1 was conserved in the cow, horse, human and mouse. Luciferase reporter assays showed that site-directed mutageneses of E box1 and 3 significantly reduced the *Tas1r1* promoter activation. Collectively, these results deduced that Myod1 binds to the E box 1 and 3 in the *Tas1r1* promoter and regulates *Tas1r1* expression in C2C12 cells.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-47 ATPによるC6グリア由来細胞の局所的カルシウムイオン濃度の上昇とその発生機構

○郷 賢治¹, 根津 顕弘², 照光 真¹, 谷村 明彦²

¹北医療大 歯 麻酔

²北医療大 歯 薬理

近年、脳の情報処理に関する細胞として、神経細胞だけでなく、神経細胞を取り囲むグリア細胞の機能に対する関心が高まっている。特にアストロサイトは、シナプス伝達、脳血流、神経細胞死などの幅広い生理・病理機能に寄与することが明らかにされつつある。さらにグリオトランスミッターと呼ばれる伝達物質を介して、隣接する細胞に情報を伝播することも知られている。ATPはグリオトランスミッターのひとつであり、細胞内のCa²⁺濃度([Ca²⁺]_i)の上昇を介してグリア細胞間の情報伝達に関与することが示唆されている。本研究ではカルシウムインジケーター(GCaMP6sあるいはYC-nano50)を発現させたラットグリア細胞腫瘍に由来する細胞株(C6細胞)を使用し、ATPによる[Ca²⁺]_i動態をライブセルイメージング法で観察した。

C6細胞に3μM以上のATPを作用させると、細胞質全体で一過性の[Ca²⁺]_i上昇と、それに続いて持続相が観察された。一方、細胞外液Ca²⁺の非存在下でのATP刺激では、一過性の[Ca²⁺]_i上昇のみが観察された。またこの[Ca²⁺]_i上昇が、P2Y受容体阻害薬であるSuraminによって抑制されたことから、C6細胞のATP刺激はP2Y受容体を介して[Ca²⁺]_i上昇を起こすことが確認された。興味深い事に、Caged ATP(50μM)を用いて、C6細胞の中心に380nmの光照射による局所的なATP刺激を行うと、光を当てた細胞質中心部ではほとんど[Ca²⁺]_i上昇が起こらず、周囲の突起部だけで[Ca²⁺]_iが観察された。細胞の中には、突起部の[Ca²⁺]_i上昇が数分間隔で起こる局所的Ca²⁺オシレーションも散見された。

細胞膜局在性Ca²⁺センサーを用いた研究で、微細突起において局所的に発生する[Ca²⁺]_i上昇が報告されている。また、その局所的な変化が抑制性シナプス伝達の制御に関与する可能性が示唆されている。現在C6細胞の突起部の[Ca²⁺]_i動態の発生機構を中心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。

ATP-induced local and global Ca²⁺ responses in rat glioma C6 cells

○Goh K¹, Nezu A², Terumitsu M¹, Tanimura A²

¹Div Dent Anesthesiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

²Div Dent Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

Glial cells are known to modulate neural functions through the release of gliotransmitters including glutamate, d-serine, glycine, GABA or ATP. In particular, ATP has been suggested to be involved in the communication among glial cells through an increase in Ca²⁺ concentration ([Ca²⁺]_i). In this study, we examined ATP-induced Ca²⁺ responses in rat glioma C6 cells using live cell imaging with genetically encoded Ca²⁺ indicators, GCaMP6s and YC-nano50.

Stimulations of ATP at concentrations above 3μM induced rapid increases in [Ca²⁺]_i in the entire cell, and subsequent sustained Ca²⁺ responses. In the absence of extracellular Ca²⁺, ATP caused a transient increase in [Ca²⁺]_i without the sustained Ca²⁺ response. These ATP-induced Ca²⁺ responses in C6 cells were inhibited by the P2Y receptor antagonist Suramin. These results indicate that ATP induced Ca²⁺ mobilization from intracellular Ca²⁺ stores through the activation of P2Y receptors. We also found that the focal photolysis of caged ATP induced localized elevations of [Ca²⁺]_i at cell processes. Currently, we are examining the mechanisms of the hyper-sensitivity of the cell processes on the ATP-induced Ca²⁺ responses in C6 cells. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

P3-48 stretched podocytes における Tumor Susceptibility Gene 101 (TSG101) 遺伝子の分子制御機構

○春原 正隆, 浅田奈緒美, 三輪 容子

日歯大 生命歯 解剖一

目的：我々は stretched podocytes における cDNA アレイ分析により, Tumor Susceptibility Gene 101 (TSG101) が podocyte 伸展時に誘導される有力な候補遺伝子であることを近年報告している. また, ESCRT-1 複合体の一部である TSG101 は, MVB 形成に関与していると考えられている. そこで podocyte においてメカニカルストレスにより発現制御されている遺伝子を同定することをこの研究の目的とした. 方法：RT-PCR 法および免疫蛍光法を用いて, podocyte における TSG101 発現の upregulation および局在を調べる一方で, MVB に関しては, 透過型電子顕微鏡によりその局在について形態的解析を行った. 結果：周期的メカニカルストレスにより, TSG101 mRNA は podocyte において upregulation されたが, podocyte の分化は TSG101 mRNA 発現レベルに影響を及ぼさなかった. TSG101 の免疫蛍光法を用いた解析により, podocyte において TSG101 は小胞状パターンで発現していることが確認され, 染色強度はメカニカルストレスによって増強されるという結果を得た. 糸球体における TSG101 mRNA の発現レベルは, DOCA・塩処置ラット (糸球体高血圧症のモデル) においても上昇が認められ, foot processes においては, 透過型電子顕微鏡による解析の結果, 増加した MVB が確認された. 結論：本研究では, 糸球体性高血圧症が, conditionally immortalized mouse podocyte において, 分解経路への細胞表面タンパク質およびそれらのリガンドへの振り分けが加速されることを示唆しており, メカニカルストレスの増大に伴い podocyte における TSG101 の発現を up-regulation す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.

Molecular regulatory mechanism of Tumor Susceptibility Gene 101 (TSG101) in stretched podocytes

○Sunohara M, Asada N, Miwa Y

Dept Anat, Sch Life Dent at Tokyo, The Nippon Dent Univ

Objective: Recently, we have reported that Tumor Susceptibility Gene 101 (TSG101) as a stretch-induced candidate gene among others by cDNA array analysis to mechanically stretched podocytes. TSG101, which is part of the ESCRT-I complex, is thought to be involved in multivesicular body (MVB) formation. The object of this study was to identify genes that are differentially regulated by mechanical stress in podocytes. Methods: By using RT-PCR and immunofluorescence procedures, we examined up-regulation and localization of TSG101 in stretched podocytes. MVBs were detected by transmission electron microscopy in foot processes and in larger processes of podocytes in untreated rats. Results: By cyclic mechanical stress, TSG101 mRNA is strongly up-regulated in podocytes but differentiation of podocytes does not affect TSG101 mRNA levels. TSG101 immunofluorescence is distributed in a vesicular pattern in podocytes, the staining intensity being enhanced by mechanical stress. Glomerular TSG101 mRNA levels are elevated in DOCA/salt treated rats (a model of glomerular hypertension) and an increased number of MVBs is observed by electron microscopy in podocyte processes. Conclusion: In this research, we confirmed that elevated mechanical stress up-regulates TSG101 in podocytes, suggesting that glomerular hypertension enhances sorting of cell surface proteins and their ligands into the degradative pathway in podocytes.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-49 マウス咬筋の筋活動に対する SSRI の影響

○望月 文子¹, 池田美菜子², 中村 史朗¹, 中山希世美¹, 壇辻 昌典¹, 加藤 隆史³,
馬場 一美², 井上 富雄¹

¹昭大 歯 口腔生理, ²昭大 歯 補綴, ³阪大 院歯 口腔生理

[目的]近年、抗うつ薬の一種であるセロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) の長期服用がブラキシズムを悪化させる危険因子になり得ることが示唆されているが、SSRI が咬筋活動にどのような影響を与えるのか不明である。そこで、SSRI の一種であるフロキセチン (FLX) およびパロキセチン (PRX) をマウスに投与し、覚醒 (W)、ノンレム睡眠 (NREM)、レム睡眠 (REM) 時の咬筋活動の変化を検討した。[方法]マウスに生体電気信号 (脳波, 眼電図, 頸筋および咬筋筋電図) の記録用電極を留置し、回復期・馴化期を経て、生体電気信号を 24 時間記録した (0 日目)。その後、FLX (10 mg/kg/day), PRX (10 mg/kg/day), H₂O または DMSO (対照群) を充填した浸透圧ポンプを背部皮下に埋入し 14 日間持続的に投与した後、生体電気信号を 24 時間記録した。咬筋の筋活動は 10 秒エポック毎の積分値を求め、0 日目の覚醒時の筋活動量の平均値を 100% として正規化し評価した。咬筋活動量は、15% を越えるものを活動ありとし、解析する睡眠ステージでの咬筋活動量の合計をその睡眠ステージの合計時間で割って平均活動量とした。また咬筋活動ありのエポック数の合計を咬筋活動時間とした。[結果と考察]対照群と比較して FLX 投与群および PRX 投与群の REM の持続時間が有意に増加した。咬筋の平均活動量は FLX 投与群ではいずれの時間帯も差はなかったが、PRX 投与群では明期前半の REM で有意に低下した。一方、咬筋活動時間は、FLX 投与群の暗期後半および明期前半の NREM で有意に増加したが、PRX 群ではいずれの時間帯でも差がなかった。以上の結果から、投与する SSRI の種類によっては、暗期と明期の切り替わりの時間帯に NREM で咬筋の活動性が増大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 effects of SSRIs on masseter muscle activities in mice

○Mochizuki A¹, Ikeda M², Nakamura S¹, Nakayama K¹, Dantsuji M¹, Kato T³, Baba K²,
Inoue T¹

¹Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent

²Dept Prosthodont, Showa Univ Sch Dent

³Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Incidents of nocturnal bruxism have been reported in depressive patients treated with the selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs). However, it is unknown how SSRIs affect masseter muscle activity. In this study, we examined the effects of chronic administration of fluoxetine (FLX) and paroxetine (PRX) on the masseter muscle activity during wakefulness (W), non-REM sleep and REM sleep. After a training session, EEG, EOG, and EMG of the masseter and neck muscles in mice were recorded for 24 h. Then mice were implanted subcutaneously with osmotic minipumps that infused H₂O, DMSO, FLX (10 mg/kg/day) and PRX (10 mg/kg/day) for 14 days. Subsequently, the recording sessions of the administration conditions were acquired for 24 h. The durations of REM sleep episodes in both FLX and PRX groups were significantly longer than those in control groups. PRX, but not FLX, significantly decreased the mean activity of the masseter muscle during REM sleep compared with control. However, FLX, but not PRX, significantly increased the time engaged in masseter EMG activation in non-REM sleep during the 02-08 h and 14-20 h periods. These results suggest that at least some SSRIs may have a limited facilitatory influence on the masseter muscle activity in non-REM sleep.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-50 抗がん剤パクリタキセルは酸味の味覚感度を変調する

○藤山 理恵

長大 歯 総歯臨床教育

がん化学療法による味覚異常の有病率は約 60%と高率であり、がん化学療法の完遂を妨げることもある重大な副作用である。また味覚異常は多くのがん患者の栄養状態悪化の要因となり、QOL 低下を引き起こす。しかし、その病態は不明な点が多い。そこで本研究では、2 瓶選択実験を行い、抗がん剤パクリタキセル（パクリタキセル (Taxol) は、卵巣がん、乳がん、肺がん、胃がんなど多くのがん化学療法に用いられている植物アルカロイドの抗がん剤である。）による酸の味覚感度への影響を解析した。実験にはラットを用い、すべて個別飼育した。二瓶選択実験前の 4 日間は 2 瓶ともに脱イオン水にて環境適応させた。その後 0.01 M HCl と脱イオン水の二溶液を各ケージにセットし 24 時間自由摂取後、それぞれの飲水量を測定した。二溶液の提示場所による影響を無くすため、二溶液の提示場所を入れ替えさらに 24 時間の飲水量を測定し、48 時間ごとの HCl 溶液の全飲水量に対する比率について分析を行った。1 週間のデータ採取後、パクリタキセル投与を開始し、コントロール群と比較した（パクリタキセルは 1 サイクルにつき 5 日間連続腹腔内投与を行い、9 日間休薬した。これを 1 サイクルとし、2 サイクル行った。また生理食塩水を腹腔内投与した群をコントロール群とした）。ラットは酸に対して拒否行動を示したが、パクリタキセル投与群では酸の味覚感度低下（HCl 溶液の飲水量比の上昇）が観察された。酸の味覚感度低下は投与開始 1 日後から生じるが、投与中止後 3-4 日目には投与前と同様に酸に対して拒否行動を示した。これらの結果からパクリタキセルはラットの酸の味覚低下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。

Paclitaxel alters sour-taste sensitivity in rats

○Fujiyama R

Dept Clin Educ Gen Dent, Nagasaki Univ Sch Dent

The alteration in taste (dysgeusia) is a common and severe side effect in approximately 60% of cancer patients undergoing chemotherapy. Dysgeusia causes malnutrition in the patients and affects their quality of life (QOL). However, the pathophysiology remains unclear. In the present study, I investigated the effects of paclitaxel, which is a chemotherapy medication used to treat a number of cancers, on voluntary HCl solution (0.01 M) intake using a two bottle choice test in rats. The rats were presented with a HCl solution and deionized water, and their consumption was measured daily. The rats received two cycles of paclitaxel chemotherapy. The cycles were repeated at 14-day intervals. Paclitaxel was administered for five consecutive days in rats. Rats usually reject 0.01 M HCl. Intraperitoneal administration of paclitaxel increased HCl-solution intake in a few days after we administrated it. Furthermore, the rats rejected HCl in several days after we stopped it. These results suggest that paclitaxel decreases sour-taste sensitivity.

Conflict of Interest: The author declares no conflict of interest.

P3-51 三叉神経系感覚情報処理における一次感覚野への皮質内線維投射

○古田 貴寛, 吉田 篤

阪大 院歯 口腔解剖二

三叉神経系の触覚処理神経システムにおける我々の先行研究では、一次体性感覚野から視床への下行性投射が視床の感覚中継ニューロン活動を調整することを明らかにした。これは、大脳皮質の内的状態が、感覚情報の処理過程に影響を与えることを示唆している。本研究では、こうした視床への下行性調節系の上流となる回路を含め、感覚皮質に様々な情報を統合する皮質内線維連絡の構築を明らかにすることを目的とし、神経トレーサーによる標識を主とした形態学的解析を行った。様々な皮質領域から一次体性感覚野への入力があることがわかったが、特に一次運動野からの軸索投射について、運動と感覚の統合に関わる回路として着目し、定量的な解析を行った。感覚野第1層は非常に薄い構造でありながら、運動野から多くの軸索の入力を受けることが判明した。これは第5層錐体細胞の apical tuft に入力するものと考えられる。また、先行研究におけるバルク注入標識では、barrel 領域より septa 領域に多くの軸索が供給されることが示唆されているため、その点についても定量的な解析をおこなった。さらに、集束イオンビーム搭載走査型電子顕微鏡を用いた3次元超微細構造データを取得し、シナプス結合について、その後シナプス構造も含め、密度やサイズなどの定量的な解析を行った。単一ニューロンの標識の結果も上記の実験の結果を裏付けるものとなったので、これとも合わせて、軸索投射構築の様子を報告する。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Cortico-cortical projection to the primary somatosensory cortex working for trigeminal sensory processing

○Furuta T, Yoshida A

Dept Oral Anat and Neurobiol, Grad Sch Dent, Osaka Univ

Primary sensory cortexes provide massive descending axons to the thalamus to modulate sensory responsiveness of thalamic relay neurons. These top-down controls are pivotal for shifting neuronal firing between burst and tonic modes. The impact of the corticothalamic pathways on the firing mode and sensory gain of thalamic neurons has only been extensively examined in anesthetized animals, but has yet to be established in the awake state. We investigated what change were caused by lesions of the barrel cortex in responses of thalamic neurons to vibrissal deflection during wakefulness. Our results showed that the cortical lesions shifted the response of thalamic neurons towards bursting, elevated the response probability and the gain of thalamocortical neurons, predominantly of recurring responses. In addition, after the lesions, the spontaneous activities of the vibrissa-responsive thalamic neurons were typified by rhythmic spiking with frequent bursting. In single neuron recording/labeling experiments, layer 6 corticothalamic neurons responded to a single vibrissal deflection with short latencies in awake rats, strongly suggesting the existence of an immediate corticothalamic feedback. Because these results showed the importance of corticothalamic neurons in shaping thalamic activities during wakefulness, we next investigated architecture of neural circuits which may integrate motor information and sensory processing.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-52 ラット咽喉頭部における水誘発嚥下抑制因子の検討

○氏原 泉, 人見 涼露, 小野堅太郎
九歯大 生理

ヒトや実験動物の咽喉頭粘膜への水注入により嚥下反射が誘発される。ヒト咽喉頭部への塩化ナトリウム (NaCl) 溶液注入により, 嚥下開始までの潜時ならびに嚥下間隔時間は, 水と比較して延長する。また, ラット喉頭への水投与による上喉頭神経の興奮は, Na^+ により抑制されるが, 陰イオンは影響しないと報告されている。一方で, ウサギ喉頭への NaCl 溶液投与による嚥下抑制は, ラットと異なり, Cl^- によることが報告されており, 咽喉頭部に対する水誘発嚥下の抑制について詳細は不明である。本研究では, ラット咽喉頭部に対する水誘発嚥下抑制因子について検討した。実験には雄性 Wistar ラットを用いた。ウレタン (1.3 g/kg, 腹腔内) 麻酔下にて口腔内にガイドカニューレを設置し, シリンジポンプを用いて咽喉頭部へ溶液 (30 μl) を注入した。嚥下反射の回数は, 舌骨上筋における筋電図記録ならびに目視にて確認した。水により嚥下が誘発され, 0.15 M NaCl 添加により嚥下回数が減少した。一方, Cl^- をグルコン酸で置換した 0.15 M グルコン酸ナトリウム (Na-Glu) 添加では, 嚥下は抑制されなかった。また, Cl^- 以外の陰イオンを含む臭化ナトリウム (NaBr) ならびにヨウ化ナトリウム (NaI) 添加により, 濃度依存性に嚥下回数が減少した。細胞容量感受性陰イオンチャネル阻害薬 DCPIB ならびにカルシウム活性化 Cl^- チャネル阻害薬 T16Ainh-A01 は, 水および 0.15 M NaCl 溶液誘発嚥下に影響しなかった。これらの結果から, 過去の報告とは異なり, ラットにおいて咽喉頭部への水誘発嚥下は Na^+ ではなく陰イオンによって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。

Inhibitory factors on the water-induced swallowing reflex in the rat pharynx

○Ujihara I, Hitomi S, Ono K
Div Physiol, Kyushu Dent Univ

Application of water to the pharyngolarynx (PL) elicits swallowing in humans and animals. NaCl solution applied to the PL prolonged interval and latency of swallowing in humans. In rats, water-induced excitation of the superior laryngeal nerve has been previously reported to be inhibited by Na^+ , in spite of reporting suppression of swallowing by Cl^- in rabbits. In this study, we investigated inhibitory factors on the swallowing in rats. Drug-containing solutions (30 μl) were directly applied to the PL of male Wistar rats under anesthesia with urethane. Swallowing was identified by EMG activity of the mylohyoid muscle and visual observation of the laryngeal movement. The number and latency of the swallowing were analyzed. Compared with water application, 0.15 M NaCl solution decreased the number of swallows, but 0.15 M Na-gluconate solution did not change the swallowing. NaBr and NaI solutions decreased the number of swallows in a dose-dependent manner. DCPIB, a selective blocker of volume-regulated anion channels, and T16Ainh-A01, an inhibitor of calcium-activated chloride channels, did not affect the swallowing. These results suggest that water-induced swallowing is suppressed by anion in rats, as the same as humans and rabbits.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-53 ラットを用いた口腔内における粘性知覚評価法の開発

○宮村 侑一¹, 人見 涼露¹, 氏原 泉¹, 小野堅太郎¹

¹九歯大 院歯 生理

²九歯大 院歯 放射線

粘性は液体食品のもつ特徴的なテクスチャの一つである。ラットは人間と同様に粘性を知覚していることが報告されており、粘性知覚評価モデル動物として有効であると考えられる。しかし、過去に報告されている実験法では増粘剤自体がもつ風味がラットの知覚に影響を与えている可能性が示唆されており、ラットが本当に粘性を認識できているのかは不明である。そこで本研究は、サッカリンによる甘味を加えることで増粘剤の風味の影響を最小限にする新しい粘性知覚評価法の有効性を検討した。増粘剤カルボキシメチルセルロース (CMC: 0.1, 0.3, 1 または 3% 濃度) をそれぞれ 0.1% サッカリン含有水に混ぜて雄性 Wistar ラットに与え、粘性溶液の摂取量を測定した。ラットの CMC 含有サッカリン水の摂取量は、サッカリン水と比較して 0.1%~1% まで有意な差は認められなかった。次に、ラットが粘性溶液を識別できているか検討する為、1% CMC 含有水をラットに与え、10 分後に塩化リチウムを腹腔内投与することで嫌悪条件付けを行った。塩化リチウム投与群の CMC 含有サッカリン水の摂取量は vehicle (生理食塩水) 投与群と比較して有意に減少した。一方で、CMC 無しサッカリン水摂取量も vehicle 投与群と比較して減少したが、CMC 含有サッカリン水の摂取量低下割合の方が有意に大きかった。甘味のない粘性溶液を用いての嫌悪条件付け後に、甘味含有粘性溶液の摂取量低下が生じることから、ラットは風味ではなく、粘性そのものを知覚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。

Development of a new method to evaluate oral viscosity perception using rats

○Miyamura Y¹, Hitomi S¹, Ujihara I¹, Ono K¹

¹Div Physiol, Kyushu Dent Univ Grad Sch Dent

²Div Dent Radiol, Kyushu Dent Univ Grad Sch Dent

Viscosity is one of the salient texture of liquid foods. Since rats have been reported to sense viscosity, the animal is useful for evaluation of viscosity perception. However, because the flavor of viscous gums affects on the perception, it is not clear that rats truly sense viscosity. This study was designed to assess a new method to evaluate oral viscosity perception using viscous fluid with sweet flavor to minimize flavor of viscous gums. Intake of saccharin solution with carboxymethyl cellulose (CMC) at concentration of 0.1, 0.3, 1 or 3% in male Wistar rats was measured to examine the effect of viscosity on drinking. No significant differences were observed between the total intake of 0.1-1% CMC solution and saccharin only solution. To clarify whether rats discriminate viscosity, they were injected LiCl after drinking 1% CMC- only solution. Intake of 1% CMC solution with saccharin was measured on post-injection. Rats injected with LiCl avoided 1% CMC solution with saccharin. They also avoided saccharin only solution, but the degree was smaller than that of CMC. These results suggest that rats can sense viscosity of solution rather than flavor.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-54 マウス大脳皮質の運動野において、錐体ニューロンからパルブアルブミン陽性インターニューロンへの入力を定量的に解析する

○倉本恵梨子, 岩井 治樹, 山中 淳之, 後藤 哲哉

鹿大 院医歯 歯科機能形態

パルブアルブミン (PV) 陽性ニューロンは、大脳皮質の抑制性ニューロンの中で最も大きな割合を占める。感覚野において、PV ニューロンが大脳皮質の広範囲のニューロン活動を同期させることで、異なるモダリティーの統合を実現している可能性が示唆され注目されている。一方で、運動野においてはPV ニューロンの解析が手付かずの状態、機能もわかっていない。皮質の運動野におけるPV ニューロンの機能を理解するためには、その基礎となる形態学的データ、すなわちPV ニューロンがどのような入力を受け、どんなニューロンに出力するのか、といった神経回路の解明が必要である。そこで本研究では、大脳皮質の運動野において、第何層の興奮性ニューロンがPV ニューロンへ強く入力し、興奮させるのかを明らかにした。PV ニューロンの情報入力部位である樹状突起および細胞体が、特異的に、ゴルジ染色様にGFP 標識されているトランスジェニックマウスを用いた。このマウスから新鮮脳スライスを作製し、大脳皮質の第2-6層の興奮性ニューロンをそれぞれ細胞内記録・染色した。そして染色した興奮性ニューロンの軸索ブトンと、PV ニューロンの樹状突起・細胞体がシナプスを形成可能なほど近接している、アポジション部位の分布と個数を解析した。興奮性ニューロンのすべての軸索ブトンのうち、PV ニューロンの細胞体・樹状突起とアポジションしていたブトンの割合は、第2/3層、4層、5層の興奮性ニューロンが約14%であるのに対し、第6層の興奮性ニューロンでは約23%と、高い割合でPV ニューロンに情報入力していることが明らかになった。つまり第6層の興奮性ニューロンは他のニューロンより1.6倍強くPV ニューロンに情報入力していた。第6層の興奮性ニューロンは、PV ニューロンを介して周囲の皮質のニューロン活動を同時に抑制することでニューロン活動を同期させ、協調運動の形成を担っ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。

Local connections of excitatory neurons to parvalbumin-containing interneurons in motor-associated cortical areas of mice

○Kuramoto E, Iwai H, Yamanaka A, Goto T

Dept Oral Anat Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

Parvalbumin (PV)-containing neurons are the largest subpopulation of cortical GABAergic interneurons. For understanding the role of PV neurons, it is important to reveal their driver inputs. In this study, we morphologically investigated local excitatory inputs to PV neurons in the motor areas, using the transgenic mice in which the dendrites and somata of PV neurons were specifically labeled with GFP. In cortical slices from the transgenic mice, single pyramidal neurons of layers (L) 2-6 were intracellularly labeled. We reconstructed the axon collaterals of stained pyramidal neurons, plotted axon varicosities, and examined whether or not each varicosity was apposed to the input sites of PV neurons. The number of varicosities apposed to PV neurons relative to the total varicosities of L2/3a, L2/3b and L5 pyramidal neurons was 13-15%, whereas that of L6 was significantly more frequent, i. e., 25%. Furthermore, the L6 pyramidal neurons group was subdivided into two groups according to their axon collaterals: slender type L6 (L6s) and wide type (L6w). Interestingly, axon varicosities of L6s pyramidal neurons more frequently apposed to PV neurons (28%) than L6w pyramidal neurons (20%). These results suggest a difference in the local excitatory control of PV neurons between L2/3-5 and L6 pyramidal neurons.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-55 抗不整脈薬フレカイニドがマウス味蕾オルガノイドおよび味行動応答に及ぼす影響

○川端 由子¹, 高井 信吾¹, 吉田 竜介², 實松 敬介^{1,3}, 重村 憲徳¹

¹九大 院歯 口腔機能解析

²岡大 院医歯薬 口腔生理

³九大 五感応用デバイス研究開発セ

[目的] 味覚は、食物の摂取や咀嚼・嚥下運動の調節をはじめ、全身の健康維持に重要な役割を果たす。味覚に異常をきたすことは、単なる感覚機能の障害にとどまらず、摂食量の低下や食事への嫌悪などから低栄養状態や社会的な楽しみの減少を招くことで、日常生活動作（ADL）や生活の質（QOL）にも大きな影響を及ぼす。しかしその原因は多岐にわたることから、有効な治療法は確立されていない。そこで、本研究では、味覚障害の分子基盤を解明することを目的とした。中でも、酸味あるいは塩味の感受性に影響を及ぼすことが推定される薬剤に着目した。

[方法, 結果および考察] マウス味蕾オルガノイドを用いて、酸味あるいは塩味障害を誘発する可能性のある候補薬剤を探索した。電解質代謝に関連する各薬剤存在下で培養すると、抗不整脈薬のフレカイニドにおいて味蕾オルガノイドの成長が14日目以降で停滞し、さらに特定の味細胞マーカー mRNA 発現量が減少した。次に、マウスを用いて味行動応答を調べた。フレカイニドを腹腔内投与して30分後の10秒間リック数は酸味（HCl）特異的に減少し、味溶液と水を2分間提示した2瓶選択嗜好試験でも酸味溶液の摂取量のみ有意に減少した。以上より、フレカイニドが長期的に特定の味細胞の分化増殖に何らかの抑制的な影響を及ぼす可能性があること、また短期的にマウスの酸味に対する忌避行動を強め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 flecainide on taste bud organoid growth and behavioral taste response in mice

○Kawabata Y¹, Takai S¹, Yoshida R², Sanematsu K^{1,3}, Shigemura N¹

¹Dept Oral Neurosci, Kyushu Univ Grad Sch Dent

²Dept Oral Physiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

³R&D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ

Taste disorders cause discomfort for the patients and decline in their quality of life. However, little is known about the molecular mechanisms of onset of those disorders. In this study, we focused on the taste dysfunction induced by drugs used for electrolyte dysbolism. First, we asked whether the drugs affect taste bud cell growth by utilizing murine circumvallate papilla taste bud organoid. One of these drugs, flecainide, a potent anti-arrhythmia agent reduced the size and the number of organoid colonies, and the mRNA expression level of several taste cell markers. Next, we investigated the effects of flecainide on behavioral taste responses in mice by short term licking and two-bottle choice tests. The mice treated with flecainide showed reduced drinking responses to HCl (sour taste) than control mice, but not to the other taste solutions. These results suggest that flecainide may have some inhibitory effects on the proliferation and/or differentiation of mouse taste cells, and might enhance the aversive response selectively to sour taste. Such effects of drug on taste systems may be one potential cause of taste dysfunction.

Conflict of Interest: There is no conflict of interest status.

P3-56 咀嚼筋の三叉-自律神経反射を介する血流動態の加齢による変調とそのメカニズム

○三戸 浩平, 佐藤 寿哉, ラマダニラトナ, 石井 久淑

北医療大 歯 生理

咀嚼筋には他の骨格筋に認められない副交感性血管拡張線維が存在しており, 三叉神経入力はいずれを介して咀嚼筋に急峻且つ広範囲な血流増加と体幹血圧の上昇を誘発することが知られている (Ishii et al., 2005). この血流増加は咀嚼筋の恒常性や筋機能に重要であり, それらの破綻が諸種の病態に関連することが示唆される. 近年, 高齢社会で急増しているサルコペニアに起因する咀嚼障害においても, 咀嚼筋の血流動態の変調がそれらの病態と関連することが報告されている (Umeki et al., 2017). しかしながら, 三叉-自律神経反射を介する咀嚼筋の血流動態に対する加齢の影響は不明である. 本研究では, 三叉神経刺激時の咀嚼筋の血流動態の加齢変化とそのメカニズムを解明することを目的とし, ウレタン麻酔下の若齢及び老齢ラットの舌神経刺激時の咬筋の血流動態と体幹血圧の変化を比較検討した. その結果, 若齢ラットでは舌神経の求心性刺激は刺激頻度に依存した咬筋の有意な血流増加と体幹血圧の上昇を誘発したが, 老齢ラットでは咬筋の有意な血流増加は認められなかった. 咬筋の血流増加時には血管拡張と先行する血管収縮から成る二相性の反応が認められた. この血管収縮はグアネチジン (降圧薬) の前処理で有意に減少し, 追従する血管拡張はヘキサメトニウム (自律神経節遮断薬) の投与で消失した. 老齢ラットにおける舌神経刺激時の血管拡張は若齢ラットに対して有意に減少し, 血圧上昇に伴う血管収縮は若齢ラットに対して有意に増大した. また, 老齢ラットのアセチルコリン感受性並びにムスカリン受容体 (特に M3) mRNA の発現量は若齢ラットよりも有意に低下していた. 以上より, 三叉神経入力時の咀嚼筋の血流増加は加齢に伴い顕著に抑制されることが明らかになった. また, この抑制作用には M3 受容体の発現量低下によるコリン作動性血管拡張の抑制と血圧上昇に起因する局所性の血管収縮の亢進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.

Age-related changes in hemodynamics in the masseter muscle via a trigeminal nerve-mediated autonomic reflex

○Mito K, Sato T, Ramadhani R, Ishii H

Div Physiol, Dept Oral Biol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Trigeminal nerve afferents induce significant parasympathetic vasodilation with systemic arterial blood pressure (SABP) increase, suggesting they are important in maintaining blood flow in the masseter muscle (MBF). Although a disturbance of MBF may be related to masseter muscle dysfunction, including age-related sarcopenia, the relationship between aging and MBF is unclear. Here, we investigated changes in MBF evoked by activation of the lingual nerve (LN) in young and old anesthetized rats. Electrical stimulation of the central cut end of the LN caused significant increases in MBF and SABP in young rats, but not in old rats. LN stimulation induced a biphasic change consisting of vasodilation and vasoconstriction in the masseter muscle. Vasoconstriction during LN stimulation increased with age, and this response was eliminated by guanethidine. LN-evoked vasodilation was significantly reduced with age, and the vasodilation was abolished by hexamethonium. Exogenously-induced cholinergic vasodilation and muscarinic receptor 3 expression in the masseter muscle were significantly lower in old rats than in young rats. These results indicate that trigeminal nerve-mediated MBF increases are reduced with age, and suggest that this inhibitory effect may be mediated by the inhibition of cholinergic parasympathetic vasodilation and the enhancement of vasoconstriction induced by SABP increase.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-57 アドレノメデュリンによる T1Rs 非依存性経路を介するマウス鼓索神経糖応答への影響

○岩田 周介^{1,2}, 井上真由子³, 吉田 竜介⁴, ニノ宮裕三^{2,5}

¹九大 院歯 口腔機能解析

²九大 五感応用デバイス研究開発セ 感覚生理・医療応用センシング

³九大 院歯 OBT 研究セ, ⁴岡大 院医歯薬 口腔生理, ⁵モネル化学感覚研

近年、我々や他のグループにより、甘味にはノンカロリー人工甘味料も受容する T1R2/T1R3 受容体経路以外に、糖輸送体を介する糖特異的カロリー受容経路も寄与している可能性が示唆されている (Sukumaran et al., 2016)。マウスの味依存的頭相インスリン分泌がノンカロリー甘味物では起こらず糖摂取でのみ起こること、T1R3 欠損では変化せず、糖受容経路にある KATP の変異により消失することから、糖受容経路が T1R3 経路と異なる機能を担っている可能性も示唆されている (Glendinning et al., 2017)。しかし、詳細は不明である。過去に、血管拡張作用を持つペプチド・アドレノメデュリン (ADM) が消化管の糖輸送体の発現を増加させることが報告されている (Fernandez de Arcaya I et al., 2005)。そこで、本研究では、ADM 投与による、味応答特性の変化を調べ、甘味受容の T1Rs 非依存性経路の存在とその機能特性について検索した。実験には C57BL/6 マウスおよび T1R3 遺伝子欠損 (-KO) マウスを用い、麻酔下で通法により鼓索神経を剖出し、各種味溶液 (甘, 塩, 苦, 酸, うま味) に対する全線維束積分応答を記録し、ADM 投与による変化を調べた。その結果、両系統のマウスは共に、ADM 投与により、糖に対する味応答が増強し、一方で人工甘味料やその他の味溶液では変化は生じないことがわかった。この ADM による特定の甘味物質に対する増強効果は、ADM 受容体阻害薬 AM22-52 前投与により消失した。さらに、T1R3-KO マウスでは、10mM NaCl 添加による糖輸送体を介した糖応答の増強作用が、ADM によりさらに増強され、この効果は糖輸送体阻害薬フロリジンで消失することがわかった。これらの結果から、糖輸送体は T1Rs 非依存性甘味受容経路として機能し、ADM はこの糖輸送体を介して特定の甘味物質に対する応答の増強を生じ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。

The effect of Adrenomedullin on chorda tympani nerve responses to sugars via T1rs-independent pathway in mice

○Iwata S^{1,2}, Inoue M³, Yoshida R⁴, Ninomiya Y^{2,5}

¹Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

²Div Sensory Physiol medical application sensing, R&D Cent for Five-Sense Device, Kyushu Univ

³OBT Res Cent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

⁴Dept Oral Physiol, Grad Sch Med Dent and Pharm Sci, Okayama Univ

⁵Monell Chem Senses Cent

Recent studies by ours and others have showed that there may be a T1Rs-independent (SGLT/GLUTs, KATP Channel) pathway for detecting only sugars in addition to a T1Rs-dependent (T1R2/T1R3) pathway which detects not only sugars but artificial sweeteners (AS) as well (Sukumaran et al, 2016). A cephalic phase insulin release (CPIR) can be induced by oral administration of sugars, but not AS in Wild type and T1R3-KO mice. And incapacitation of the KATP pathway abolishes CPIR, suggesting a possibility that T1Rs-independent and -dependent pathways may function independently of one another (Glendinning et al. 2017). However, details still remain unknown. In the gut enterocytes, expression of SGLT1 was shown to increase after administration with Adrenomedullin (ADM), a biologically active peptide (Fernandez et al., 2005). So, we examined potential effects of ADM on taste responses of mouse chorda tympani (CT) nerve with a particular focus on T1Rs-independent sugar responses. The results showed that administration of ADM significantly enhanced responses to sugars but not to AS (SC45647) in the CT, and the enhancement was inhibited by AM22-52, an ADM receptor blocker, and abolished by phlorizin, a SGLT inhibitor. Collectively, our results suggest that there may exist ADM-sensitive and T1Rs-independent sugar-responsive system in taste cells.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-58 4-nitroquinoline 1-oxide 誘発マウス舌癌における T 細胞および NK 細胞の抗腫瘍作用

○山口 花¹, 森 一将², 廣井 美紀¹, 松本 安吏², 嶋田 淳², 大森 喜弘¹

¹明海大 歯 微生

²明海大 歯 口外 I

【目的】化学発癌物質 4NQO (4-nitroquinoline 1-oxide) の経口投与によるマウス舌癌モデルを用い、舌癌病変の形成における T 細胞, NK 細胞の抗腫瘍作用について Rag2 ノックアウト (Rag2^{-/-}) 及び Rag2/Il2rg (Rag2^{-/-}γC^{-/-}) ダブルノックマウスを用いて検討した. 【結果】腫瘍病変の形成数は各マウス間で大きな違いは見られなかったが, 個々の腫瘍の大きさは野生型マウスと比較して, Rag2^{-/-}マウスでは増大がみられ, さらに Rag2^{-/-}γC^{-/-}マウスではより大きな病変形成が認められた. 浸潤リンパ球について免疫組織化学的検討を行った結果, 野生型マウスでは 4NQO 投与群で CD161 (NK1.1) 陽性細胞の浸潤が見られたが Rag2^{-/-}マウスでその割合は減少し, Rag2^{-/-}γC^{-/-}マウスではさらに減少していた. 一方, マクロファージのマーカーである F4/80 陽性細胞は, Rag2^{-/-}γC^{-/-}マウスにおいて増加傾向が見られた. 腫瘍局所で発現しているケモカイン, サイトカインの発現をリアルタイム PCR 法にて検討した結果, IFNγ 誘導性遺伝子である Cxcl9, Cxcl10, Cxcl11 及びその受容体である Cxcr3 の発現が Rag2^{-/-}γC^{-/-}マウスで顕著に減少していた. 一方, Ccl2, Ccl3, Ccl4, 及び Il1b, Il6 などの炎症性遺伝子の発現は増加していた. 【考察】これらの結果から化学発癌物質 4NQO によるマウス舌癌病変では, CXCR3 陽性細胞, 特に NK 細胞を介した免疫監視機構により腫瘍の進展が抑制されているものと考えられる. また F4/80 陽性マクロファージの浸潤は腫瘍の進展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.

Antitumor activity of T cells and NK cells in 4-nitroquinoline 1-oxide-induced mouse tongue carcinogenesis

○Yamaguchi H¹, Mori K², Hiroi M¹, Matsumoto A², Shimada J², Ohmori Y¹

¹Div Microbiol, Dept Oral Biol, Meikai Univ Sch Dent

²Div Oral Maxillofac SurgI, Dept Diag Therap Sci, Meikai Univ Sch Dent

PurposeWe generated a mouse tongue cancer model using the carcinogen 4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO) and examined the anti-tumor activity of T cells and NK cells in mouse tongue carcinogenesis using Rag2 knockout (Rag2^{-/-}) and Rag2 and IL2r (Rag2^{-/-}γC^{-/-}) double knockout mice. **Result**Although there was no significant difference between the numbers of tumors formed, the volume of each tumor was significantly larger in Rag2^{-/-} mice than in wild type mice and the largest in Rag2^{-/-}γC^{-/-} mice. Immunohistochemical analysis showed infiltration of CD161 (NK1.1)-positive cells in 4-NQO-treated wild type mice, while a lower number of these cells infiltrated Rag2^{-/-} mice, and Rag2^{-/-}γC^{-/-} mice exhibited the least infiltration of these cells. Real-time PCR analysis of the chemokine/cytokine gene expressions in the tumor lesions showed that expression levels of the IFN inducible genes, Cxcl9, Cxcl10, Cxcl11, and receptor Cxcr3, were significantly low in Rag2^{-/-}γC^{-/-} mice. However, levels of inflammatory chemokines and cytokines, such as Ccl2, Ccl3, Ccl4, Il1b, and Il6, were high in Rag2^{-/-}γC^{-/-} mice. **Discussion**These results suggest that CXCR3-positive cells, particularly NK cells, participate in tumorigenesis suppression in the 4-NQO-induced tongue carcinoma via immunosurveillance, and that F4/80 macrophages may involve in the progression of the carcinogen-induced tongue carcinoma.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-59 舌粘膜病変における異型上皮形質の比較病理学的解析

○佐藤かおり¹, 工藤 朝雄^{1,2}, 田谷 雄二¹, 添野 雄一¹

¹日歯大 生命歯 病理

² (有) パソラボ

【目的】口腔粘膜における扁平上皮癌の成立機序として、慢性的な刺激によって上皮性異形成（前癌病変）・上皮内癌を経て浸潤癌へ進展するとされており、実際に多くのヒト扁平上皮癌症例で癌組織周囲に上皮内癌や上皮性異形成の所見が分布している。一方で、イヌ・ネコは、癌のリスク要因である飲酒や喫煙の習慣が無く、外来刺激に晒される期間（寿命）も短い。他の動物種に比べて扁平上皮癌の発生率が高く、癌周囲粘膜にヒトの前癌病変に類似した異形成病変を有することが知られている。本研究では、口腔粘膜上皮の異型上皮についてヒト・イヌ・ネコの舌表在性病変を用いた比較解析を行った。【方法】舌扁平上皮癌症例における癌周囲粘膜および潰瘍病変（炎症性異型の比較対照）を対象として、H-E染色およびサイトケラチン（CK13, CK17）、Ki-67の免疫染色を行った。異型度の判定は、いずれもヒトWHO分類（2017年）の口腔上皮性異形成の診断基準を参照して細胞異型・構造異型を評価した。【結果と考察】イヌ・ネコにおける癌周囲粘膜の観察では、ヒトの上皮性異形成や上皮内癌との類似性が認められたが、核分裂像に乏しく、分裂細胞の分布も基底側にとどまる傾向にあった。また、ネコでは癌周囲粘膜の細胞異型が比較的軽度なもので、イヌでは癌部と周囲粘膜の境界が不明瞭なものが多くみられた。免疫染色によりKi-67陽性細胞の多層化やCK13発現消失・CK17発現の所見が確認できたが、ヒトと比して複雑な発現分布パターンを呈した。以上の比較解析により、病変組織構造に動物種間の差異がみられるものの、異型上皮細胞の形質は基本的に同等でありヒト病変に外挿しうると考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Comparative pathological analysis of atypical epithelium in tongue mucosal lesions

○Sato K¹, Kudo T^{1,2}, Taya Y¹, Soeno Y¹

¹Dept Pathol, Nippon Dent Univ

²PATHO LABO

In this study, we conducted comparative analysis of the atypical phenotypes of oral mucosal epithelium among human, dog, and cat. H-E staining and immunostaining of cytokeratins (CK13 and CK17) and Ki-67 were performed on tongue precancerous and carcinoma specimens. Comparison with pericancerous epithelia in dog and cat lesions showed similarities with human epithelial dysplasia and carcinoma in situ, but both dog and cat lesions exhibited poor mitotic figure and basal-oriented distribution of dividing cells. The atypical phenotype of cat epithelia was relatively mild, while the border between the cancerous area and the surrounding mucosa was relatively unclear in dog cases. Immunostaining confirmed the emergence of multilayered Ki-67-positive cells as well as loss of CK13 expression and CK17 expression, but their distribution patterns were more complicated than those in human. Although the above comparative analysis revealed differences in cell and tissue structures among those mammalian species, it was considered that the atypical epithelial phenotypes were basically equivalent and might be extrapolated to human lesions.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-60 ALOX は ρ^0 細胞において脂質過酸化と過酸化水素取り込みを制御する

○富田 和男¹, 高 裕子^{1,2}, 五十嵐健人¹, 西谷 佳浩², 佐藤 友昭¹

¹鹿大 院医歯 歯科応用薬理

²鹿大 院医歯 歯科保存

ミトコンドリアは ATP 産生のみならず、細胞死や活性酸素種 (ROS) 産生に関与する細胞内小器官である。また、ミトコンドリアは独自の DNA (mtDNA) を持ち、この mtDNA を欠失させた ρ^0 細胞は ROS の 1 つである過酸化水素 (H_2O_2) に対して感受性である。これまでの研究で、 ρ^0 細胞では H_2O_2 を分解するカタラーゼの酵素活性が上昇しており、抗酸化酵素以外の関与が示唆されること、 ρ^0 細胞においては、細胞膜脂質の過酸化が亢進していること、細胞に H_2O_2 処理をすると内在性の H_2O_2 が上昇する前に脂質の過酸化の亢進が起きることから、脂質過酸化がこの感受性に重要であることが予想される。そこで今回、脂質過酸化に関与する酵素であるリポキシゲナーゼ (ALOX) の役割について検討した。本研究ではヒト子宮頸部がん (HeLa) 及び舌がん (SAS) 細胞由来の ρ^0 細胞を用いて解析した。 ρ^0 細胞において ALOX5, 12, 15 の遺伝子発現を調べたところ、その全ての発現が親株に比べ亢進していた。また、ウエスタンブロットによりタンパク質発現を検討したところ、ALOX12 と 15 の発現が亢進していた。免疫染色の結果より、ALOX5 は主に核にその発現が見られたが、ALOX12 と 15 は、細胞質と細胞膜にその発現が多く見られた。また、ALOX5 の阻害剤であるカフェー酸処理では H_2O_2 処理後の内在性 H_2O_2 の上昇と脂質の過酸化の亢進を押さえることができなかったが、ALOX5 だけではなく ALOX12 と 15 も阻害する Nordihydroguaiaretic acid (NDGA) 処理によりその両方が抑制された。これらの結果より、 ρ^0 細胞では、ALOX、特に ALOX12 および 15 の亢進により脂質の過酸化が進んでおり、酸化ストレスに対して感受性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。

ALOXs control lipid peroxidation and H_2O_2 intake in ρ^0 cells

○Tomita K¹, Takashi Y^{1,2}, Igarashi K¹, Nishitani Y², Sato T¹

¹Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

²Dept Restor Dent Endodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

Mitochondria have been reported to be involved in a lot of biological process such as ATP production, cell death and reactive oxygen species production. Mitochondria have its own DNA (mtDNA), and this mtDNA-deleted ρ^0 cells are sensitive to hydrogen peroxide (H_2O_2). In ρ^0 cells, the catalase activity is higher than that of parental cells, plasma membrane peroxidation is enhanced. Lipid peroxidation after H_2O_2 administration occurs before endogenous H_2O_2 elevation. These results indicate that the lipid peroxidation is important for this sensitivity. Therefore, we investigated the role of lipoxygenase (ALOX), an enzyme involved in lipid peroxidation. ALOX5, 12, 15 gene expression was up-regulated and ALOX12 and 15 protein expressions were enhanced in ρ^0 cells. In addition, caffeic acid treatment, which is an inhibitor of ALOX5, failed to suppress the elevation of endogenous H_2O_2 and the increase of lipid peroxidation after H_2O_2 treatment, but treatment of Nordihydroguaiaretic acid (NDGA), which inhibits all the ALOXs, suppressed both of them. These results indicate that ALOX, particularly ALOX 12 and 15, control lipid peroxidation and leads to sensitivity to oxidative stress in ρ^0 cells.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-61 低酸素誘導性 HIF-1 α 及び ZEB1 がエナメル上皮腫の悪性形質転換に重要である

○吉本 尚平¹, 森田 浩光², 橋本 修一¹

¹福歯大 病理

²福歯大 総合歯

エナメル上皮癌 (ameloblastic carcinoma:AC) は稀な悪性歯原性腫瘍であり, 周囲組織の破壊吸収を伴いながら急速に進展する. AC は主に顎骨から *de novo* に, あるいは, 先行する良性腫瘍のエナメル上皮腫 (ameloblastoma:AB) から二次的に発生するとされるが, その発生機序については不明である. 本研究は AB の悪性形質転換からの AC の発生機序を明らかにすることを目的とした. 一般に発がん, 及び, がんの進展には, 周囲組織を含めた微小環境が重要視されており, なかでも炎症や低酸素状態が, がん細胞の浸潤・増殖の重要な促進因子とされている. また, がん細胞の浸潤やその治療抵抗性において, 上皮間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition:EMT) が重要な役割を果たし, がん微小環境中の炎症性サイトカインが EMT を誘導するとされている. 本研究において, まず, 同一患者の二次発生エナメル上皮癌 (AC) と先行エナメル上皮腫 (AB) の両組織標本を用いた DNA マイクロアレイ解析の結果から, AC において低酸素応答を担う *HIF1A*, 及び, EMT 誘導転写因子の一つである *ZEB1* 遺伝子の有意な発現上昇を認めた. また, 免疫組織学的半定量解析からも, HIF-1 α , *ZEB1* 蛋白の AC における発現上昇を認めた. さらに, エナメル上皮腫細胞株 AM-1 を用いた低酸素培養実験より, 腫瘍細胞の卵円形から紡錘形への形態変化, TGF- β 発現上昇および EMT マーカー蛋白の発現変化から EMT 誘導を認めた. 加えて, スクラッチアッセイによる機能解析の検討から遊走能の上昇を認めた. 以上の結果より, がん微小環境における低酸素誘導性 HIF-1 α , *ZEB1* が TGF- β 依存的 EMT を介し AB の悪性形質転換に重要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.

Hypoxia induced HIF-1 α and ZEB1 are critical for the malignant transformation of ameloblastoma

○Yoshimoto S¹, Morita H², Hashimoto S¹

¹Sect Pathol, Fukuoka Dent Coll

²Dept Gen Dent, Fukuoka Dent Coll

In this report we aimed to clarify the mechanisms of malignant transformation of ameloblastoma (AB) or ameloblastic carcinoma (AC) carcinogenesis. At the first step of this experiment by the DNA microarray and scatterplot analyses against AC and pre-existing AB, we focused on two genes, *HIF1A* and *ZEB1*, as favorable genes for our aim. Next, we revealed that the expressions of these two proteins were both significantly higher in ACs than in ABs. In addition, we recognized the co-expression of HIF-1 α and *ZEB1* in the nuclei of AC cells especially in the regions showing aggressive growth of AC cells. At last, we substantiated the evidence *in vitro* that hypoxia induced HIF-1 α and *ZEB1* expressions and EMT-like morphological changes in AM-1 cells. Finally we concluded that hypoxia induced HIF-1 α and *ZEB1* are critical for the malignant transformation of AB via TGF- β -dependent EMT.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-62 BMP9 刺激によって誘導される Hif-1 α は解糖系酵素 PDK1 の発現を介して骨芽細胞分化に必須の役割を果たす

○松口 徹也¹, 千葉 紀香¹, 成 昌奘², 大西 智和¹

¹鹿大院医歯 口腔生化, ²鹿大院医歯 顎顔面外科

【目的】低酸素誘導因子 Hif-1 α は低酸素下における血管新生や解糖などを調節するが、骨格発達における役割も知られる。今回 BMP (骨形成タンパク質) の骨誘導作用と Hif1- α の関連を調べるため、BMP9 の骨芽細胞分化誘導シグナルにおける Hif1- α の機能的役割を解析した。【方法】マウス新生仔頭蓋骨由来骨芽細胞およびマウス骨芽細胞株 (MC3T3-E1) を、リコンビナント BMP9, BMP2 で刺激し、ウェスタンブロッティング法によって細胞内シグナル伝達分子の活性化を、定量 RT-PCR 法にて BMP 反応性の遺伝子発現誘導を解析した。また、特異的シグナル阻害剤、siRNA による各種シグナル伝達分子の遺伝子ノックダウンの効果を検討した。【結果】マウス骨芽細胞において、BMP9 および BMP2 は通常酸素濃度下で Hif-1 α の蛋白発現量を 2 時間以内に上昇させた。また、低酸素環境による Hif-1 α の蛋白発現量増加を相乗的に亢進させた。BMP9 による Hif-1 α タンパク発現誘導は、Hif-1 α mRNA の増加を伴わず、Chrysin (PHD 活性化剤) によって抑制されたが、NSC697923 (Ubc13 阻害剤) では抑制されなかった。siRNA による Hif-1 α ノックダウンは、解糖系酵素である PDK1 mRNA の BMP9 による誘導を抑制したが、VEGF α mRNA の誘導は変化を受けなかった。BMP9 刺激による骨芽細胞分化については、骨基質石灰化と Alpl mRNA 誘導がそれぞれ、Hif-1 α および PDK1 の特異的阻害剤と、siRNA による Hif-1 α および PDK1 遺伝子ノックダウンによって抑制された。【考察】骨芽細胞の BMP9 および BMP2 の刺激によって Hif-1 α 蛋白発現が正常酸素濃度下でも誘導され、PDK1 発現誘導を介して骨芽細胞分化に重要な役割を果たす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。

Hif-1 α expression is essential for BMP9-mediated osteoblast differentiation through the induction of a glycolytic enzyme, PDK1

○Matsuguchi T¹, Chiba N¹, Seong C², Ohnishi T¹

¹Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

²Dept Oral Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

[OBJECTIVE] BMPs are involved in bone healing and regeneration. Hif-1 α is a well-established hypoxia-responsive protein inducing angiogenesis and glycolysis. Here, we investigated the functional roles of Hif-1 α in BMP9-induced osteoblast differentiation. [RESULTS] Hif-1 α protein expression was significantly induced by both BMP9 and BMP2 in MC3T3-E1, a mouse osteoblast cell line, within 2 hours. Combination of BMP9 and hypoxia resulted in synergistic increase of Hif-1 α protein. Chrysin (PHD activator), but not NSC697923 (Ubc13 inhibitor), inhibited BMP9-induced Hif-1 α protein expression. When Hif-1 α expression was knocked down by siRNA, the mRNA induction of PDK1, but not that of VEGF α , was significantly inhibited in BMP9-stimulated MC3T3-E1 cells. Mineralization process of osteoblasts was inhibited in the presence of Hif-1 α or PDK1 inhibitor, while ALP mRNA expression was significantly inhibited by siRNA-mediated knockdown of either Hif-1 α or PDK-1. [CONCLUSION] Hif-1 α protein expression is rapidly induced by osteogenic BMPs in osteoblasts under normoxic condition by a different mechanism than hypoxia. Hif-1 α expression is essential for the induction of a glycolytic enzyme, PDK1, but not that of VEGF α , in BMP9-stimulated osteoblasts. Since increased glycolysis is an essential feature of differentiated osteoblasts, our findings indicate that Hif-1 α expression is important in BMP9-mediated osteoblast differentiation through the induction of PDK1.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-63 低出力パルス超音波 (LIPUS) の半月板修復効果とその作用機序 - CCN2/CTGF の関与

○青山絵理子¹, 西田 崇^{1,2}, 久保田 聡², 滝川 正春¹

¹岡大 医歯薬 歯先端研セ

²岡大 医歯薬 口腔生化

半月板は線維軟骨であり、辺縁 1/3 は血液の流入を認めるが、inner 領域は無血行野で関節軟骨様の特徴を示し治癒しづらい。一方我々は、低出力パルス超音波 (LIPUS) が培養軟骨細胞の CCN2/CTGF の産生と、アグリカンや II 型コラーゲンの発現を促進することを報告した。そこで今回、LIPUS により CCN2 等の軟骨修復因子が誘導されることで半月板修復が促進されるとの仮説の下、LIPUS が半月板に及ぼす影響を調べた。ヒト半月板培養細胞に対する LIPUS 刺激 (3 MHz, 60 mW/cm², 20 分) により、inner 細胞では CCN2 の発現・産生および SOX9, アグリカン, 2 型コラーゲンの遺伝子発現が上昇し、MEK1 阻害剤 PD98059 および p38 MAPK 阻害剤 SB203580 でこの CCN2 産生促進作用は抑制され、siRNA で CCN2 をノックダウンすると LIPUS による SOX9, ACAN の発現上昇が抑制された。outer 細胞では LIPUS により CCN2 の発現が僅かに上昇し、細胞遊走促進効果が認められた。また in vivo 実験においても LIPUS 刺激により、ラット膝半月板の *Ccn2*, *Sox9*, *Col2a1*, *Vegf* の発現が上昇した。次いで、ラット両膝外側半月板 (LM) 断裂モデルを作成し、術後 7 日目から 1 および 4 週間毎日 LIPUS 刺激を与え治癒状況を組織学的に評価したところ、断裂部での連続性は LIPUS 刺激膝でより良好であった。以上の結果から、LIPUS は半月板 inner 領域においては CCN2 などの軟骨修復因子を誘導することで細胞外基質産生を亢進し、outer 領域では細胞遊走を促進することで半月板修復効果を示すことが示唆され、LIPUS が損傷半月板の非侵襲性治療法として有用となる可能性が示唆された。会員外共同研究者：釜付祐輔, 古松毅之, 前原亜美, 尾崎敏文 (岡山大学整形外科), 山中信康 (伊藤超短波 KK)

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Reparative effect of low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) on injured meniscus - Involvement of CCN2/CTGF

○Aoyama E¹, Nishida T^{1,2}, Kubota S², Takigawa M¹

¹ARCOCS Okayama Univ Dent Sch Grad Sch Med Dent Pharm

²Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm

Menisci are fibrocartilages, particularly of which their inner region is an avascular and similar to those of articular cartilage, and hence is inferior in healing. We previously reported that low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) treatment stimulates the production of CCN2/CTGF and the gene expression of major cartilage matrices in cultured chondrocytes. Here, we investigated whether LIPUS has also favorable effect on meniscus cells and tissues. LIPUS treatment (60 mW/cm² intensity, 20 minutes) stimulated the gene expression and protein production of CCN2 via ERK and p38 signaling pathways, as well as gene expression of SOX9, aggrecan, and collagen type II in human inner meniscus cells in culture, and slightly stimulated the gene expression of CCN2 and promoted the migration in human outer meniscus cells in culture. LIPUS also induced the expression of *Ccn2*, *Sox9*, *Col2a1*, and *Vegf* in rat intact meniscus. Furthermore, LIPUS treatment for 1 to 4 weeks promoted healing of rat injured lateral meniscus. These data indicate that LIPUS treatment might prevent meniscus from degenerative change and exert a reparative effect on injured meniscus via up-regulation of repairing factors such as CCN2 and that it might thus be useful for treatment of an injured meniscus as a non-invasive therapy.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-64 骨芽細胞の機械感受性イオンチャネル発現

○永井佐代子^{1,2}, 戸田はる菜¹, 大山 定男¹, 大房 航¹, 東川明日香¹, 木村 麻記¹,
澁川 義幸¹, 片倉 朗²

¹東歯大 生理

²東歯大 口腔病態外

【緒言】 機械的負荷は骨代謝において重要な調節因子である。骨芽細胞は機械刺激により細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) が上昇することが知られており、機械刺激で誘発される初期細胞応答と考えられている。機械刺激による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇に関する報告は多くあるが、その詳細な刺激受容メカニズムは未だ不明である。そこで骨芽細胞に対する直接機械刺激で誘発される $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変化を検討した。**【方法】** マウス骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1 細胞) を 12~24 時間培養 (5% CO_2 , 95% air, 37°C) し、 Ca^{2+} 蛍光指示薬である fura-2/AM を 1 時間負荷した。標準細胞外液は Krebs 溶液とした。Krebs 溶液灌流下にガラスマイクロピペットで MC3T3-E1 細胞に直接機械刺激を与えた。試薬は機械感受性イオンチャネル抑制薬として Gd^{3+} , GsMTx4 を、Transient Receptor Potential (TRP) V4 チャネル阻害薬として RN1734 を、TRPA1 チャネル阻害薬として HC030031 を、TRPC5 チャネル阻害薬としてクレミゾール塩酸塩を使用した。**【結果】** Gd^{3+} , GsMTx4 , RN1734 は機械刺激誘発性 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加を可逆的に抑制した。HC030031, クレミゾール塩酸塩溶液は機械刺激誘発性 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加を有意に抑制しなかった。**【考察】** 機械感受性イオンチャネルの阻害薬である Gd^{3+} , GsMTx4 , RN1734 存在下で骨芽細胞に直接機械刺激を行うと $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加が有意に抑制されたことから、MC3T3-E1 の機械刺激受容機構には Gd^{3+} , GsMTx4 , RN1734 感受性機械感受性イオンチャネルが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 mechanosensitive ion channel in osteoblasts

○Nagai S^{1,2}, Toda H¹, Ooyama S¹, Oofusa W¹, Higashikawa A¹, Kimura M¹, Shibukawa Y¹,
Katakura A²

¹Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

²Dept Oral Pathobiol Sci Surg, Tokyo Dent Coll

< Introduction > Mechanical stress is one of the important regulatory factors in bone homeostasis. Although mechanical stimulation to osteoblasts elicits an increase in intracellular free Ca^{2+} concentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$), their detailed mechanism of the mechanosensitive processes remains unclear. The present study investigated pharmacological properties of direct mechanical stimulation-induced $[\text{Ca}^{2+}]_i$ response in osteoblasts. < Method > Mouse osteoblast-like cells (MC3T3-E1 cells) were cultured in 5% CO_2 at 37°C and loaded fura-2/AM for 1 hr. The standard extracellular solution was Krebs solution. We applied direct mechanical stimulation to the cells by glass micropipette. < Result > Extracellular Gd^{3+} and GsMTx4 (antagonist for mechanosensitive channels), RN 1734 (TRPV4 antagonist) reversibly inhibited mechanical stimulation-induced $[\text{Ca}^{2+}]_i$ increases, while we could not observe HC030031 (TRPA1 antagonist)- and clemizole (TRPC5 antagonist)-sensitive mechanical stimulation-induced $[\text{Ca}^{2+}]_i$ increase. < Discussion > The results suggested that osteoblasts express Gd^{3+} -, GsMTx4 - and RN1734-sensitive mechanosensitive ion channels.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-65 両生類下顎骨における Notch シグナルおよび甲状腺ホルモンの発現について

○三輪 容子, 浅田奈緒美, 春原 正隆

日歯大 生命歯 解剖 1

哺乳類において再生可能な部位は毛, 皮膚, 肝臓部分切除など一部の臓器・条件に限られ, 顎顔面領域での器官再生についてはほとんど解明されていない. 器官再生臓器の分子機構解析では細胞培養を基本とするが, 一方, 両生類は四肢や眼球など幅広い器官で再生機能について分子レベルから観察されており, 顎顔面領域でも顎骨を切除後に歯や歯周組織も含めほぼ完全な形で再生することが報告されている. 有尾両生類アカハライモリ (*Cynops pyrrhogaster*) は尾や手足, 顎等の切断後に再生することが知られている. Notch シグナルは発生過程の神経線維, 血管形成, 体節などの様々な分化過程に関係し, 成体では幹細胞の分化を誘導することが知られておりヒトを含め脊椎動物から昆虫まで広く保存されたシグナル伝達経路である. 我々は, Notch シグナルが, *Cynops pyrrhogaster* の顎の切断から再生まで再生機構において重要な役割を有すると考えた. 我々は, 顎骨の切断実験を行い顎骨再生の各段階を組織学的に検討し再生部位における Notch タンパクと Notch リガンド Delta-1 の発現についてリアルタイム PCR を用いて定量的な比較を行った. Notch, Delta-1 とともに再生部位では正常部位比べて変化がみられたことから顎骨全体の再生に Notch シグナルが影響を与えていると推論した. Notch シグナルは神経分化を抑制する HES を介して甲状腺ホルモンの影響を受けることが知られている. 我々は顎骨再生過程と甲状腺ホルモン/レセプター (TH/THR) 系との関連性を報告しており, 甲状腺ホルモンは脊椎動物で共通に存在しており, 特に両生類では変態に大きく関与し成長時には脱皮を誘発する因子と考えられている. 顎顔面の器官再生についても Notch シグナルを介して TH/THR 系が影響を与えている可能性が高いことが示唆された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Expression of Notch signaling and thyroid hormone in lower jaw of the newt

○Miwa Y, Asada N, Sunohara M

Dept Anat, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

Japanese newts *Cynops pyrrhogaster* has regenerative ability following amputation of the jaw. We hypothesize that the Notch signaling network has important component of regeneration system in following amputation of jaws. Notch signals are involved in various differentiation processes such as nerve fibers, hematopoiesis, somites. It is a well preserved signaling pathway in many metazoans from vertebrates to arthropods, including humans. We examined Notch and Notch legend Delta-1 expression in the stages of newt jaw bone regeneration by quantitative real time PCR in regenerative stage. We demonstrated Notch and Delta-1 mRNA to be expressed predominantly in regenerating area compare to normal side. We assume that regeneration of amputated jaw may affected by Notch signals. Notch signaling is known to be affected by thyroid hormone via HES that suppresses neural differentiation. We report the relationship between the amputated jaw regeneration process affected by the thyroid hormone/ receptor (TH/THR) system. Thyroid hormone is common in vertebrates, and it is highly involved in metamorphosis especially in amphibians during growth period. It is thought that the factor of f maxillofacial organs is also likely to be affected via Notch signaling through TH/THR system.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-66 鎖骨頭蓋異形成症由来 iPSC における ncRNA の発現

○小野寺晶子¹, 大木 章生², 斎藤 暁子¹, 小倉 弘之², 中村 貴¹, 西井 康²,
末石 研二², 東 俊文¹

¹東歯大 生化

²東歯大 歯科矯正

DNA から転写される RNA には mRNA の他にタンパク質をコードしないノンコーディング RNA (ncRNA) が存在し、転写、翻訳のみならずエピジェネティクスなど生体内プロセスに関与することが報告されている。我々はこれまで鎖骨頭蓋異形成症 (CCD) を用いた疾患 iPSC 細胞を作製し、骨形成に関わる機能を検討してきた。本研究では CAGEseq を用い骨芽細胞分化における ncRNA の発現について検討した。細胞は異なる RUNX2 変異を有する鎖骨頭蓋異形成症 (CCD) 由来 iPSC 細胞 (CCDiPSC) および変異修復細胞 (reviPSC) を使用した。我々が以前報告した骨芽細胞分化誘導法 (J. Biol. Chem. 287 (27) 2012, PLoS One. 20149(6):e99534) に従って iPSC を培養したところ、コントロール iPSC (reviPSC) は CCDiPSC と比べ RUNX2, DLX5, COL1A1, SPARC mRNA の高い発現が認められた。また骨芽細胞分化で変化する上位 100 位の遺伝子を用いて Gene Ontology 解析を行ったところ、reviPSC にのみで骨形成に関係するタームが認められた。この際の RUNX2 プロモーター発現を確認すると上流に位置する P1 部位より下流に位置する P2 部位に強いピークが認められた。次に骨形成に関与するクラスターに含まれる ncRNA を抽出したところ、reviPSC で MIR199A2, MIR152, HOXB-AS3, AC004540.4, RP11-399K21.11 の発現が CCDiPSC と比べ有意に上昇していた。以上より以前の我々の報告と同様、網羅的遺伝子発現解析法においても RUNX2 を修復した iPSC 細胞は骨芽細胞分化能を回復することが示唆された。また P1 プロモーターのみならず、P2 プロモーターによる RUNX2 発現においても骨芽細胞分化マーカーの上昇ことが示された。また micro-RNA と lncRNA が協調し骨芽細胞分化を制御し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。

The expression profile of noncoding RNA in osteoblast derived from cleidocranial dysplasia iPSC

○Onodera S¹, Ooki A², Saito A¹, Ogura H², Nakamura T¹, Nishii Y², Sueishi K², Azuma T¹

¹Dept Biochem Tokyo Dent Coll

²Dept Orthodont Tokyo Dent Coll

RNAs can be arbitrarily classified into two groups, mRNA and ncRNA. Unlike mRNA, ncRNAs like microRNA and lncRNA, does not encode for proteins but yet have specific biological functions. We have established RUNX2 mutated iPSC (CCDiPSC) cells from the patient with clavicle cranial dysplasia and RUNX2-corrected iPSC (reviPSC) by gene editing. In this study, we examined the expression of ncRNA in osteoblast differentiation using CAGEseq. Osteoblastic cells induced from revIPSC showed an increase the expression of RUNX2, DLX5, COL1A1, SPARC mRNA than those from CCD iPSCs. CAGEseq analysis revealed that strong peak was observed at the RUNX2-P2 site located downstream of the RUNX2-P1 site located upstream of DNA in revIPSC. CAGEseq analysis also revealed that the RNA expression of MIR199A2, MIR152, HOXB-AS3, AC004540.4 and RP11-399K21.11 was increased in revIPSC derived osteoblastic cells compared to CCDiPSC derived ones. These results suggested that RUNX2-repaired iPSC restore osteoblast differentiation ability in the comprehensive gene expression analysis similar to our previous report. It was also shown that osteoblast differentiation markers were elevated not only in the P1 promoter but also in RUNX2 expression by the P2 promoter. It is also considered that micro-RNA and lncRNA may coordinate to control osteoblast differentiation.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-67 BMP-9による骨芽細胞分化における Egr-1の役割の解析

○千葉 紀香, 大西 智和, 松口 徹也

鹿大 院医歯 口腔生化

【目的】 TGF- β ファミリーサイトカインに属している骨形成因子 (BMPs) は強い骨形成促進作用を及ぼすサイトカインであるが, その有用性から歯周病における歯槽骨再生や骨折, 骨の喪失などに対する効果的な骨再生療法として臨床応用への期待が高まっている. BMP-9は BMP ファミリーの中でも最も強い骨芽細胞分化誘導能を持つことが報告されているが, そのシグナル伝達経路など作用機構については不明な点が多いため. 我々は最近, 骨芽細胞において BMP-9 刺激により転写因子である Egr-1 の発現量が著明に増加することを見出した. そこで BMP-9 シグナル伝達における Egr-1 の役割について検討した. 【材料と方法】 マウス骨芽細胞株 MC3T3-E1 にアスコルビン酸 (AA2P) や BMP-9 で分化誘導刺激を与え, その際の Egr-1 の役割について siRNA によるノックダウン, Tet-On システムを用いた強制発現系などを利用し, リアルタイム PCR 法やウエスタンブロットング法などを用いて解析した. 【結果】 MC3T3-E1 を AA2P で刺激することによっても BMP-9 刺激と同様に Egr-1 の発現量が分化初期段階で有意に増加した. また, その増加は AA2P も BMP-9 もどちらの刺激でも一過性であったが, Egr-1 を siRNA によりノックダウンすると, BMP-9 刺激により通常誘導される骨芽細胞分化マーカーの発現が抑制された. また, Tet-On システムを用いた Egr-1 の強制発現下では BMP-9 単独刺激に比較していくつかの骨芽細胞分化マーカーの発現量が初期段階において有意に増加していた. しかし, BMP-9 により誘導される分化マーカーとして重要なもののうちいくつかは Egr-1 強制発現下でも変化がみられないか, また一方で Egr-1 強制発現のみでも誘導が増強される分化マーカーも存在した. 【結論】 Egr-1 は BMP-9 や AA2P により誘導される骨芽細胞分化において一過性に発現が上昇し, 複数の骨芽細胞分化マーカー遺伝子の発現に重要な調節因子としての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.

Egr-1 plays an important role in BMP-9-induced osteoblast differentiation

○Chiba N, Ohnishi T, Matsuguchi T

Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

[Object] Bone morphogenetic proteins (BMPs) is a family cytokine inducing osteoblast differentiation and bone development, consequently BMPs are thought as new and powerful tools for regenerative medicine of bone fracture and bone loss such as periodontitis. BMP-9 is the strongest BMP regarding osteogenesis and osteoblast differentiation, however, the detail of signaling is still unclear. We have recently found that BMP-9 greatly induces early growth response protein 1 (Egr-1) gene expression in osteoblasts. Here, we investigate a role of Egr-1 in BMP-9-induced osteoblast differentiation. [Materials and Methods] mRNA and cell lysates are collected from MC3T3-E1 cells stimulated with ascorbic acid or BMP-9 in combination with Egr-1-specific siRNA or Tet-On inducible gene expression system. mRNA was reverse transcribed, and cDNA was analyzed by realtime PCR. Target proteins in cell lysates were separated and detected by Western blotting. [Result] We found that AA2P induced early and transient Egr-1 gene expression in MC3T3-E1 cells, which is similar to BMP-9 stimulation. Knockdown of Egr-1 by siRNA suppressed BMP-9-induced osteogenic gene expression. Egr-1 overexpression enhanced some of osteogenic gene induced by BMP-9. Interestingly, some other genes were not affected. [Conclusion] Egr-1 is induced by BMP-9 transiently and plays an important role in osteoblast differentiation.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

P3-68 Apigenin modulates inflammation and signaling regulation for reparative dentin formation in exposed pulp

○Chang-Yeol Yeon¹, Nirpesh Adhikari¹, Yam Prasad Aryal¹, Eui-Seon Lee¹,
Chang-Hyeon An¹, Hitoshi Yamamoto², Jae-Kwang Jung¹, Gil-Saeng Jeong³,
Jung-Hong Ha¹, Jae-Young Kim¹

¹Sch Dent, IHBR, Kyungpook Natl Univ

²Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll

³Div Pharmacognosy, Keimyung Univ

Purpose: Apigenin, a natural product belonging to the flavone class, is reported that it has effects on a range of cell physiology including cell signaling, inflammation, proliferation cycle, migration and protease production. To examine the detailed function of apigenin in regulation of pulpal inflammation and tertiary dentin formation, we applied the apigenin after the pulpal cavity preparation.

Materials and Methods: After the pulpal cavity preparation at 8-week-old male mice, we delivered the apigenin into pulpal cavity before direct pulp capping with a calcium hydroxide-based materials. After the local delivery of apigenin, we examined altered cell physiology including modulation of inflammation, cell proliferation and differentiation using immunostainings against CD31, MPO, NESTIN and Beta-Catenin. In addition, altered signaling expression patterns including JAK-STAT and Wnt signalings were examined using in vitro E14 tooth germ cultivation and quantitative real-time polymerase chain reaction.

Results and Discussion: Apigenin-treated pulp specimens showed the period-altered immunolocalization patterns of CD31, MPO, Nestin, and Beta-Catenin. Quantitative real-time polymerase chain reaction analysis showed up-regulated JAK-STAT and Wnt signalings. Moreover, apigenin-treated group showed a complete formation of dentin bridge with very few irregular tubules after 42 days from pulpal cavity preparation. The micro-computed tomographic images confirmed apparent dentin bridge structures in the apigenin treated specimens than those of the control. Overall, apigenin would facilitate the reparative dentin formation through modulation of inflammation and signaling regulations.

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

P3-69 Facilitation of bone healing capacity through modulation of Meox2 expression

○Tae-Young Kim¹, Nirpesh Adhikari¹, Youngkyun Lee¹, Jae-Kwang Jung¹, Chang-Hyeon An¹, Wern-Joo Sohn², Hitoshi Yamamoto³, Il-Ho Jang⁴, Seo-Young An¹, Jae-Young Kim¹

¹Sch Dent, IHBR, Kyungpook Natl Univ

²Pre Major of Cosmetics and Pharmaceut, Daegu Haany Univ

³Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll

Purpose: Periodontitis is one of the most prevalent inflammatory diseases disrupting periodontium tissue, characterized by gingival inflammation and alveolar bone loss. In this study, we examined the bone healing capacity of Meox2, a homeobox gene playing important roles in bone and skeletal muscle development. **Materials and Methods:** To examine the bone formation capacity through modulation of Meox2, we employed differentiation level of hPDL stem cell and animal disease model of periodontitis, induced with ligature for 5 days in left second maxillary molar. The detailed differentiation level and histomorphological changes were examined using a range of experimental methods. In addition, to define the precise bone healing processes and underlying mechanisms, we observed the precise localization patterns of various signaling molecules including CD31, CK14, IL1- β , MPO, Oseocalcin, Runx2 with osteoclast activity using TRAP staining.

Results and Discussion: Compared with the control, siRNA-Meox2 treated specimens showed early responses of the subsiding inflammation and increased mass of bony tissues in the extraction socket region at the first and second week from the treatment of siRNA respectively. Based on the results, we suggest that knocking down of Meox2 would induce the bone formation via modulation of inflammation and bone forming related signaling regulations. In addition, our experiments would provide new conceptual approaches of gene therapy to overcome periodontitis and associated severe consequences.

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

PS1-01 ガッタパーチャポイントへのフローシステムによるバイオフィーム形成解析

○池澤 叡輔¹, 古川 喜大¹, 田中 雄祐¹, 葛城 啓彰²

¹日歯大新潟 生命菌 3年

²日歯大新潟 生命菌 微生物

【目的】新しいフローセルシステムを用い、より立体的な環境における歯内治療用ガッタパーチャポイント表面上のバイオフィーム形成を解析した。【材料と方法】新しいフローセルシステムは、蠕動ポンプ、シリコンチューブに接続した三方向コック、細胞培養インサート、および6ウェル培養プレートを改良することによって作成した。歯科用材料として、6社製の歯内療法用ガッタパーチャポイント(#50)を使用し、菌株として黄色ブドウ球菌209p株を使用した。ガッタパーチャポイントを、細胞培養インサート内で黄色ブドウ球菌溶液を加え37℃で30分間プレインキュベートした後、培養プレート各ウェルを1%グルコース、2% NaCl添加BHI液体培地で満たし、一定流速で37℃で48時間培養した。灌流培養終了後、リン酸緩衝液で洗浄し、ガッタパーチャポイントに付着したバイオフィームをボルテックスミキサーを用いて振動分離した後、連続段階希釈とコロニー形成法により付着菌数の計測を行った。一部のサンプルはクリスタルバイオレット染色を用いた実体顕微鏡および走査型電子顕微鏡で観察した。さらに、ガッタパーチャポイントの超純水培養抽出物について蛍光X線分析を行った。【結果】灌流培養終了後、点の表面に生育した黄色ブドウ球菌のコロニー数は $0.04\text{--}5.9 \times 10^6$ CFU/mlであった。SEM観察の結果、黄色ブドウ球菌のマイクロコロニー、細胞外マトリックス、およびバイオフィーム様構造がガッタパーチャポイント表面に観察された。ガッタパーチャポイントからの抽出物は、ZnおよびNiにエネルギーピークを示した。【考察】三次元連続灌流培養下でのガッタパーチャポイントへのバイオフィーム形成は、このシステムを使用することによって確認された。またガッタパーチャポイント培養抽出物はバイオフィーム形成に影響を及ぼさなかった。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Biofilm formation on the surface of gutta-percha endodontic point (GPEP) using a flow system

○Ikezawa E¹, Furukawa Y¹, Tanaka Y¹, Kasuragi H²

¹Nippon Dent Univ, Sch Life Dent at Niigata

²Dept Microbiol, Sch Life Dent at Niigata, Nippon Dent Univ

Purpose: A new flow cell system was developed to analyze biofilm formation on the GPEP. **Materials and methods** The flow cell system was created by modifying the peristaltic pump, three-way stopcock, cell culture insert, and 6-wells culture plate. Six kinds of GPEP and Staphylococcus aureus 209p strain were used. S. aureus solution was pre-incubated with disinfected GPEP for 30 minutes. Each well was filled with 1% glucose, 2% NaCl-added BHI liquid medium, and cultured for 48 hours under constant flow rate. After the culture, the attached biofilm on the GPEP was subjected to oscillation separation and then colony count was performed. Some of the other samples were observed with stereotypic microscope, scanning electron microscope (SEM) and X-ray fluorescence element analysis. **Result:** After culture, the colony number of S. aureus grown on the GPEP was $0.4\text{--}5.9 \times 10^6$ CFU/ml. As a result of SEM observation, micro colonies, extracellular matrix, and biofilm were observed on the GPEP. The extract from GPEP showed Zn and Ni peak fluorescence. **Conclusion:** Biofilm formation on the endodontic point under three-dimensional continuous perfusion culture is confirmed by using this system. And the extract was no influence to biofilm formation. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

PS1-02 ビルベリー果実に含まれる天然物化合物の口腔微生物に対する抗菌活性の測定

○佐藤祐太郎¹, 石原 和幸²

¹東歯大 歯

²東歯大 微生物

【目的】ビルベリー (*Vaccinium Myrtillus L.*) の抽出成分は、これまでいくつかの病原微生物への抗菌活性が報告されている。本研究では、ビルベリーの抽出物及び、抽出精製物の口腔微生物に対する抗菌活性を測定した。【方法】乾燥ビルベリー (市販品) を液体窒素下で破碎し、アセトンを用いて抽出した。抽出液からアセトンを除去したのち、10%リン酸水溶液を用いて pH 3 以下に調整し、酢酸エチルを用いて油水分離を行った。油層を回収し乾固して抽出物とした。抽出物は、シリカゲルオープンカラムとヘキサン-アセトン混合溶媒を用いて分離精製した。精製分離の確認はシリカゲル薄層クロマトグラフィーを用いて行った。抽出物および精製物の口腔微生物に対する MIC 値を測定した。【結果】抽出物の *Porphyromonas gingivalis* に対する MIC 値は 0.5 mg/mL であった。精製物の *Porphyromonas gingivalis* に対する MIC 値は 31 μ g/mL, *Fusobacterium nucleatum* に対する MIC 値は 63 μ g/mL, *Prevotella intermedia* に対する MIC 値は 53 μ g/mL であったが、一方で、*Streptococcus mutans* に対しては MIC 値を検出できなかった。【考察】精製物の *Porphyromonas gingivalis* に対する MIC 値が抽出物に比べて低下したことから活性の本体は精製されたものと判断した。また、精製物の 4 種類の口腔細菌に対する MIC 値の違いは、細菌の構造や代謝の違いによ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。

Investigation of the antimicrobial activity of a natural product of bilberry fruit against oral microorganisms

○Sato Y¹, Ishihara K²

¹Fac Dent, Tokyo Dent Coll

²Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll

Bilberry (*Vaccinium myrtillus L.*) exerts antimicrobial activities against several pathogens. In the present study, we investigated the antimicrobial activities of bilberry extract and the purified products against oral microorganisms. [Methods] Dry bilberry was mashed and extracted with acetone. Acetone was removed, and ethyl acetate was added for oil-water separation. The oil layer was collected and evaporated. The obtained extract was purified with the silica gel open column. Separated fractions were analyzed by TLC. The MIC of the extract and the purified fraction against oral microorganisms was measured. [Result] The MIC of the extract for *Porphyromonas gingivalis* was 0.50 mg/mL. The MIC of the purified fraction was 31 μ g/mL for *P. gingivalis*, 63 μ g/mL for *Fusobacterium nucleatum*, and 53 μ g/mL for *Prevotella intermedia*. No MIC was detected for *Streptococcus mutans*. [Discussion] The decrease in MIC values observed for the purified fraction compared with the extract indicated that the antimicrobial component was purified. The difference in the MICs between microorganisms is probably related to their differences in structure or metabolism.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

PS1-03 代表的歯周病原菌である *Porphyromonas* 属を抑制するプロバイオティクス菌代謝産物の探索

○白井 大地, 酒井 湧志, 河井 智美, 前田 伸子, 大島 朋子

鶴大 歯 微生物

【目的】歯周病菌の中でも特に強い病原性を有する *Porphyromonas* 属はヒトの間だけでなく、ヒトと犬や猫などの高齢のペットとの間でも相互に転移することが報告されており、その代表的な菌種は *P. gingivalis* に加え、*P. salivosa* や *P. gulae* が挙げられているが、その対策は未だ考えられていない。そこで、近年注目されているプロバイオティクスの有用性に着目した。しかし、乳酸菌などのプロバイオティクス菌は有機酸を産生し齲蝕や知覚過敏のリスクが伴うので、有機酸を排除した利用法として、生菌そのものではなく、産生された有効成分を活用することが望ましいと考え、有効な *Lactobacillus* 属の株を探索し、歯周病予防への応用の基礎研究を目的とした。【方法】13 菌株の *Lactobacillus* 属を MRS 培地で 1 晩嫌気培養し、遠心分離および濾過により分けた培養上清を pH 7 に中和した。3 種類の *Porphyromonas* 属 (*P. gingivalis*, *P. salivosa*, *P. gulae*) に対し、最小発育阻止濃度を測定した。さらに、ジンジパイン(トリプシン様酵素)活性抑制試験として、*Porphyromonas* 属の菌体抽出液と *Lactobacillus* 属培養上清を 1:1 で 30 分間接触させたのち、ジンジパインの基質 BA(P)NA と 30 分間反応させ、活性を吸光度(A405)で測定し判定した。【結果と考察】抗菌試験の結果、3 種類すべての *Porphyromonas* 属への発育抑制効果がみられたのは、5 つの *Lactobacillus* 株であったが、ジンジパイン活性抑制性の強い株と一部異なっていたので、臨床応用する際には複数の菌株を同時に用いることが重要であると考えられた。これらの上清成分を pH 中性で利用することで、齲蝕リスクを伴わない口腔プロバイオティクスによる歯周病抑制が可能となると考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Exploring the probiotic bacterial metabolites that suppress a representative periodontal pathogen of genus *Porphyromonas*

○Shirai D, Sakai Y, Kawai T, Maeda N, Ohshima T

Tsurumi Univ Sch Dent Med, Dept Oral Microbiol

(Purpose) Previous reports indicate that highly periodontal pathogens of genus *Porphyromonas*, translocate among humans and also between humans and elderly pets like dogs and cats, but no countermeasures have been considered yet. We focused on probiotics, which has attracted attention in recent years. However, probiotic bacteria produce organic acids with the risk of dental caries and hypersensitivity. We preferred to utilize the metabolically produced active ingredients, without viable bacteria, to exclude organic acids. Then we searched for effective *Lactobacillus* strains for periodontal disease prevention. (Materials & Methods) Thirteen *Lactobacillus* species were cultured overnight in MRS medium, and the centrifuged and filtrated culture supernatant (CS) was neutralized to pH7. The minimum inhibitory concentrations were determined for three *Porphyromonas* species (*P. gingivalis*, *P. salivosa*, and *P. gulae*). To test the suppression of gingipain (trypsin-like enzyme) activity, each *Porphyromonas* cell extract was mixed with CS and brought to reaction with BA(P)NA. The activity was determined by measuring the absorbance (A405). (Results & Discussion) Five *Lactobacillus* strains showed a growth inhibitory effect on all three *Porphyromonas* species, but they were partially different from the strains with strong gingipain inhibitory activity. It seems important to use multiple strains simultaneously for clinical application.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

PS1-04 マウス壊死性筋膜炎モデルの感染局所における *Streptococcus pyogenes* の遺伝子発現解析

○花田 知己, 広瀬雄二郎, 山口 雅也, 住友 倫子, 中田 匡宣, 川端 重忠
阪大 院菌 口腔細菌

【目的】 *Streptococcus pyogenes* は咽頭・皮膚などから分離されるグラム陽性球菌である。本菌はしばしば組織深部に侵入し、壊死性筋膜炎などの重篤な皮下軟部組織感染症を惹起する。感染局所では、宿主の細胞や組織による炎症応答が、*S. pyogenes* の遺伝子発現に影響を与えていると考えられる。しかし、壊死性筋膜炎の感染局所における *S. pyogenes* の遺伝子発現パターンは不明である。本研究では、マウス壊死性筋膜炎モデルを用い、感染局所における *S. pyogenes* の遺伝子発現変化を検討した。【方法】劇症型感染症由来の血清型 M1 型 *S. pyogenes* をマウス壊死性筋膜炎モデルに供試し、感染 24, 48, および 96 時間後に組織を回収した。直径の異なる 2 種類のビーズを用いて段階的に核酸を抽出することにより、感染組織から細菌由来の RNA を分離した。次世代シーケンサーによる RNA-seq 解析を行い、感染局所における *S. pyogenes* の遺伝子発現変化を網羅的に検討した。【結果】 THY 培養条件と比較して、感染局所で有意に発現する *S. pyogenes* の遺伝子を、感染経過時間ごとに検出した。いずれの感染時間においても発現変動を示す遺伝子が 483 個存在した。このうち、生体内で一貫して発現が上昇していた 306 遺伝子には、病原因子や、アルギニン・ヒスチジンの利用経路、糖質や金属イオンの取り込み経路をコードする遺伝子群が確認された。また、病原因子の中でも溶血毒素ストレプトリジン S、システインプロテアーゼ、DNA 分解酵素をコードする遺伝子の顕著な発現が示された。一方、生体内で一貫して発現が下方制御されていた 117 遺伝子では、酸化ストレス反応及び細胞分裂に関与する遺伝子などが確認された。【結論】マウス壊死性筋膜炎モデルの感染局所において、*S. pyogenes* はアミノ酸・糖質・金属イオンなどの栄養利用経路や毒素の発現を上方制御している一方で、酸化ストレス反応や細胞増殖に寄与する分子を下方制御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。

Transcriptomic profiling of *Streptococcus pyogenes* at the infection site of mouse necrotizing fasciitis model

○Hanada T, Hirose Y, Yamaguchi M, Sumitomo T, Nakata M, Kawabata S
Dept Oral Mol Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Streptococcus pyogenes is a major cause of necrotizing fasciitis, a life-threatening subcutaneous soft-tissue infection. It is thought that the inflammatory environment at the site of infection causes global gene expression changes of *S. pyogenes* for survival and pathogenesis. However, there is no previous report about transcriptomic profiling of *S. pyogenes* in the necrotizing fasciitis. In this study, we used a mouse model of necrotizing fasciitis and performed RNA-sequencing (RNA-seq) analysis of *S. pyogenes* M1T1 strain 5448 by using infected hindlimbs obtained at 24, 48, and 96 h post-infection. The RNA-seq analysis identified 483 bacterial genes whose expression was consistently altered during infection as compared to their expression under THY culture conditions. The consistently upregulated 306 genes contained transcripts involved in virulence, carbohydrate utilization, amino acid metabolism, and trace-metal transport system. Surprisingly, drastic upregulation of 3 genes, encoding streptolysin S precursor, cysteine protease, and secreted DNase, was noted. Conversely, the consistently downregulated 177 genes included transcripts involved in oxidative-stress response and cell division. These results suggest that *S. pyogenes* at the infection site of mouse necrotizing fasciitis model changes metabolism pathway, decreases cell proliferation, and upregulates the expression of major toxins.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

PS1-05 緑膿菌バイオフィーム形成菌の抗菌薬抵抗性に関わる遺伝子について

○喜田 悠太¹, 村上 圭史², 藤猪 英樹²

¹徳大 歯 4年

²徳大 院医歯薬 口腔微生物

【目的・背景】バイオフィームを形成した細菌は、適切な抗菌薬を使用しても十分な効果が得られず、難治化、慢性化することから問題となることが多い。この原因として、抗菌薬存在下では増殖出来ないものの死滅しない現象である、抗菌薬抵抗性が重要であると考えられているものの、そのメカニズムには不明な点が多い。本研究では、抗菌薬抵抗性メカニズムを明らかにすることを目的として、PA2384 遺伝子に着目し、その役割について解析を行った。【使用菌株】緑膿菌 PAO1 株を親株として、PA2384 遺伝子欠損株やプラスミドによる強発現株を作製し、バイオフィーム形成菌や浮遊菌での抗菌薬抵抗性について解析を行った。また、RT-PCRにより、浮遊菌とバイオフィーム形成菌における遺伝子発現の解析を実施した。【結果と考察】PA2384 遺伝子欠損株は、バイオフィーム形成には影響を与えないものの、ビアネムやレボフロキサシンなどの抗菌薬曝露後の生存率は、親株より低下しているため、バイオフィーム形成菌での抗菌薬抵抗性に関与している事が明らかとなった。また、浮遊菌では、欠損株において生存率に影響は認められなかったものの、強発現株では、レボフロキサシンに対しては、生存率が上昇していた。一方、PA2384 遺伝子発現は浮遊菌では低いものの、バイオフィーム形成菌では大きく上昇していた。これらの結果より、PA2384 遺伝子はバイオフィーム形成菌の抗菌薬抵抗性に重要な役割を果たしていることが示された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

An antibiotic tolerance related gene in biofilm cells of *Pseudomonas aeruginosa*

○Kita Y¹, Murakami K², Fujii H²

¹Fac Dent Tokushima Univ

²Dept Oral Microbiol Inst Biomed Sci, Tokushima Univ Grad Sch

Bacterial biofilms are well known to be tolerant to antibiotics compared to planktonic bacteria. Antibiotic tolerance has attracted attention causing chronic, refractory and persister infections. We previously reported that some transposon mutants of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 exhibited low tolerance of biofilm cells. In this work, we focused on PA2384 gene in these mutants and investigated the role for antibiotic tolerance. We made an in-frame mutant and overexpressing strain of PA2384 gene. In PA2384 mutant, biofilm formation was almost same with PAO1, however, antibiotic tolerance in biofilm cells exhibited lower than that of PAO1 for biapenem and levofloxacin. In the overexpressing strain of PA2384 gene, antibiotic tolerance in planktonic cells showed higher than that of vector control for levofloxacin. Moreover, the gene expression of PA2384 gene was increased in biofilm cells compared with planktonic cells. These results indicated that PA2384 could be related with antibiotic tolerance specifically in biofilm cells.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

PS1-06 超短時間組織透明化法とがんの診断および治療薬開発への応用

○金久保千晶¹, 横山 真子¹, 吉田 光希², 佐藤 惇², 安彦 善裕², 谷村 明彦¹

¹北医療大 歯 薬理, ²北医療大 歯 病理

近年, 組織透明化技術と共焦点レーザー顕微鏡を使った組織の立体構造の解析が注目されている。組織切片を作成することなく細胞の構造を立体的に観察できるという点を活かして, 細胞の構造や機能を迅速に可視化できれば, 新たな診断法において画期的なブレイクスルーが期待できる。特にがんの浸潤範囲を観察できれば, 術中迅速病理診断への応用ができるのではないかと考えられる。しかし従来の透明化法では, 通常3日から10日という長い時間が必要であることが問題であった。我々は, 超音波や加熱による分子振動で浸透性を高め, 組織を迅速に透明化できることを発見した。ホルマリン固定した組織を染色し, 透明化液に浸漬し4分間の超音波処理あるいは加熱処理によって組織を透明化できることがわかった。またこれらの方法と従来法で透明化した組織を共焦点レーザー顕微鏡観察で比較すると, 超音波や熱処理によって組織の破壊が起らないことが確認された。さらに自家蛍光を利用することで, 無染色でも透明化し共焦点レーザー顕微鏡観察をすることで立体構造の解析が出来ることが分かった。これらを利用して, 組織を切り出してから10分以内に立体構造の解析を行う迅速透明化技術を開発した。またレンチウイルスを使って, 細胞増殖マーカータンパク質 (Fucci(CA)2) を安定発現するヒト舌癌細胞株 (SAS-Fucci 細胞) を作成した。この SAS-Fucci 細胞あるいは HeLa 細胞をヌードマウスに移植して発生したがん組織を切除し, 超音波処理により4分で迅速に透明化した。この組織の共焦点レーザー顕微鏡解析によって, がんおよび周辺組織の立体構造解析に成功した。さらにがん組織中に移植した SAS-Fucci 細胞の蛍光が確認できた。これらの結果から, がんの細胞周期の解析によって抗腫瘍薬の in vivo スクリーニング試験への応用が可能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。

Ultra short-time method for tissue clearing and its application to cancer diagnosis and drug development

○Kanakubo C¹, Yokoyama M¹, Yoshida K², Sato J², Abiko Y², Tanimura A¹

¹Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

²Div Pathol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

A combination of tissue clearing techniques and confocal laser scanning microscopy (CLSM) provides very powerful method for visualizing three-dimensional structure of tissue. However, the conventional protocol needs a certain duration of time (3-10 days) for tissue-clearing. Thus, we hypothesized that enhanced molecular mobility of tissue-clearing solutions allows a rapid tissue clearing. Based on this idea, we treated tissues in tissue-clearing solutions with sonication or heating, and we succeeded in the tissue-clearing within four minutes. CLSM confirmed no detectable damage on the sonicated- or heated-tissues. Moreover, we found that autofluorescence enables to visualize three-dimensional structures of these tissues without staining. To apply these methods for the cancer diagnosis, we developed the human tongue cancer cell line expressing cell-cycle sensor protein (SAS-Fucci cells), and transplanted into immunodeficient mice (BALB/cSlc-nu/nu) to form cancers. We succeeded in forming cancers with SAS-Fucci cells, clearing the cancer tissues with the novel "rapid tissue clearing method", and visualizing the cancer and surrounding tissues. In addition, the fluorescence of SAS-Fucci cells was detected in the cleared cancer tissues. It can be expected that our novel tissue clearing method is applicable for intraoperative diagnosis of an invasive cancers and for the in vivo screening of anti-tumor agents.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

PS1-07 舌表在性病変における上皮細胞形質の解析

○廣原つかさ^{1,2}, 田谷 雄二¹, 佐藤かおり¹, 島津 徳人³, 添野 雄一¹

¹日歯大 生命菌 病理

²麻布大 生命・環境科学 臨床検査技術

³麻布大 生命・環境科学 食品生理

【目的】種々の刺激に晒される口腔粘膜上皮では、遺伝子変異の蓄積により次第に悪性形質を獲得するが、初期の異常は細胞形態変化として捉えにくい。本研究では、癌幹細胞の指標となる Bmi-1 および CD44 に注目して、舌表在性病変における発現変化と異型形質との関連について解析した。【方法】舌表在性病変の外科切除検体 17 例（上皮性異形成および上皮内癌）のパラフィン薄切切片に対して、抗 Bmi-1 抗体、抗 CD44 バリエント（CD44v5, CD44v6, CD44v7-8, CD44v9）抗体による免疫染色を行い、各分子の発現パターンを比較解析した。【結果と考察】健常部上皮において、Bmi-1 は基底層の上皮細胞、結合組織中の線維芽細胞の一部で核に陽性反応がみられた。上皮性異形成では、基底層とそれに続く有棘細胞層の一部で陽性細胞が出現しており、上皮内癌では、角化層を除く全層において Bmi-1 陽性細胞が認められた。CD44 の各バリエントは、健常～軽度異型を示す上皮では基底層～有棘層の細胞間隙に陽性反応がみられた。CD44v5 および CD44v7-8 は、有棘細胞の分化が進む上方において発現が減弱し、CD44v5 は高度異型～上皮内癌の基底側で発現減弱する傾向もみられた。一方、CD44v6 および CD44v9 は、他のバリエントよりも基底細胞での発現が強く、特に CD44v6 は高度異型を示す基底側で発現が強まる傾向が認められた。CD44v6 および CD44v9 の発現亢進は Bmi-1 陽性細胞の局在と概ね一致していた。以上の所見から、舌粘膜の初期病変において、Bmi-1 発現亢進と連動した CD44 バリエントの発現変化が悪性形質の指標となりうると考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Phenotypic analysis of precancerous tongue epithelium

○Hirohara T^{1,2}, Taya Y¹, Sato K¹, Shimazu Y³, Soeno Y¹

¹Dept Pathol, Nippon Dent Univ

²Dept Med Technol, Azabu Univ

³Dept Food Life Sci, Azabu Univ

Oral mucosal epithelium is exposed to various stimuli and acquires malignancy by accumulation of genetic mutations. In this study, we evaluated the expression profiles of Bmi-1 and CD44, which are indicators of cancer stem cells, to elucidate their involvement in atypical properties of oral mucosal epithelium. Immunostaining for Bmi-1 and CD44 variants (CD44v5, CD44v6, CD44v7-8, and CD44v9) were performed using surgically resected tongue lesions (epithelial dysplasia and carcinoma in situ). Bmi-1-positive cells appeared from the basal layer to the lower layer of the spinous layer in epithelial dysplasia as well as carcinoma in situ. CD44 molecules were localized in the intercellular spaces of the basal and spinous layers in normal and mild atypical epithelia. The expression of CD44v5 and CD44v7-8 tended to be attenuated apical side of the spinous layer, while CD44v6 and CD44v9 showed a strong expression in basal cells. In particular, CD44v6 was intensified at the basolateral layer of highly atypical epithelia. Since the upregulation of CD44v6 and CD44v9 almost coincided with the localization of Bmi-1 positive cells, we conclude that the changes in the expression of CD44 variants in conjunction with the Bmi-1 upregulation could be an early indicator of premalignant property of tongue mucosa.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

PS1-08 アレンドロネート投与が骨特異的血管に与える影響について

○吉野 弘菜¹, 吉田 泰士², 宮本 幸奈³, 邱 紫旋³, 網塚 憲生³, 長谷川智香³

¹北大 歯 5年

²北大 歯 6年

³北大 院歯 硬組織発生生物

正常な骨において、破骨細胞と骨芽細胞はカップリングによりバランスのとれた骨吸収と骨形成を行うことが知られている。従って、アレンドロネート (ALN) を投与すると、破骨細胞が抑制されるだけでなく、引き続き、骨芽細胞も抑制されてしまい低骨代謝回転となる。一方、近年、破骨細胞だけでなく骨特異的血管 (CD31 強陽性/endomucin 強陽性血管) も骨芽細胞活性に関与する可能性が報告されている。以上から、我々は、骨リモデリング部位である二次骨梁において、ALN が骨特異的血管に与える影響を組織化学的に検索した。1 mg/kg の ALN を 10 日間皮下投与した 8 週齢マウス大腿骨の骨幹端では、endomucin 陽性血管の数および管腔幅が、コントロールマウス (ALN 非投与) に比べて有意に減少していた。また、透過型電子顕微鏡観察では管腔壁の不規則な厚さを示す血管内皮細胞や多数の細かな突起を有する血管内皮細胞が観察された。次に、ALN (1 mg/kg) を外頸静脈から単回投与したマウス大腿骨を解析すると、投与 3 日までは骨特異的血管の数と管腔径は、コントロール群と比べて有意に減少していたが、10 日後には回復していた。TRAP 陽性破骨細胞数は、骨特異的血管と同様に、ALN 投与 3 日目で減少したが、投与 10 日後には回復する傾向を示した。しかし、ALP 陽性骨芽細胞は、投与 2 日後から減少し、その傾向は 10 日後まで持続していた。このように、骨特異的血管は、ALN によって破骨細胞と同様の時間的抑制・回復を示したことから、ALN により速やかに抑制されるが、その後の回復も早いことが推察された。一方、骨芽細胞は、一度、ALN により抑制されると長期間にわたり影響が続くことが示唆された。以上、骨特異的血管はビスホスホネートにより抑制を受け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。

Biological effects of alendronate for bone-specific blood vessels

○Yoshino H¹, Yoshida T², Miyamoto Y³, Qiu Z³, Amizuka N³, Hasegawa T³

¹Hokkaido Univ, Sch Dent Med

²Hokkaido Univ, Sch Dent Med

³Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Bone metabolism is achieved by balanced bone resorption and formation based on cell coupling between osteoclasts and osteoblasts. When administered with alendronate, not only osteoclastic bone resorption but also subsequent osteoblastic bone formation is inhibited. Recently, the presence of CD31^{high}/endomucin^{high} blood vessels specific to bone has been reported to be involved in the osteoblastic activities. Therefore, we have histochemically examined the biological effects of alendronate (ALN) on bone-specific blood vessels in the region of secondary trabeculae. Femoral metaphyses of mice administered with ALN (1 mg/kg) for 10 days showed the reduced numbers and diameters of endomucin-positive blood vessels, when compared with the control specimens. Transmission electron microscopic observation demonstrated irregular thickness of the walls and many fine processes of the vascular endothelial cells when treated with ALN. After single injection of ALN (1 mg/kg) through external jugular veins, the numbers and diameters of blood vessels, as well as osteoclast numbers were decreased until 3 days after the injection, but were recovered after 10 days. Unlikely, osteoblastic activities appeared to be inhibited early from 2 days after the injection and continued to be inhibited more than 10 days. In conclusion, it is likely that bone-specific blood vessels would be inhibited by ALN.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

PS1-09 脂肪細胞分化に対する低出力パルス超音波 (LIPUS) の抑制メカニズムの 説明

○橋谷 智子¹, 西田 崇², 長尾有里香¹, 滝川 正春³, 久保田 聡^{2,3}

¹岡大 歯, ²岡大 院医歯薬 口腔生化, ³岡大 院医歯薬 歯先端研セ

昨年の本学会で、我々は低出力性パルス超音波 (low-intensity pulsed ultrasound : LIPUS) による、未分化間葉系幹細胞から脂肪細胞への分化抑制にインスリンシグナルの減弱を介した C/EBP α の遺伝子発現レベルの低下が起因することを報告した。また、LIPUS 処置によって CCN family protein 2 (CCN2) が誘導されることも報告したが、そのメカニズムと脂肪細胞分化の抑制における CCN2 の役割は未だ十分に明らかにされていない。今回、LIPUS 処置によってどのように誘導され、そして誘導された CCN2 が脂肪細胞分化の抑制にどのように関わっているのかを解析した。マウス脂肪前駆細胞株 3T3-L1 を脂肪細胞に分化させた後、LIPUS 処置を 1 日 20 分、3 日間連続で行った結果、脂肪滴の形成は抑制され、C/EBP α の遺伝子発現レベルも有意に抑制された。また、成熟脂肪細胞から分泌されるアディポカインの一つであるアンジオテンシノゲン (Agt) の遺伝子発現レベルも有意に低下した。さらに、LIPUS 処置は F-アクチン形成を促進し、形成された F-アクチンは YAP タンパク質を核へと移行することで、その標的分子である CCN2 の発現量を増加させることが明らかとなった。次に CCN2 の脂肪細胞分化における影響を解析するため、3T3-L1 細胞に *Ccn2* を過剰発現させた後に脂肪細胞分化させると、脂肪滴数の減少と PPAR γ の遺伝子発現レベルの有意な低下が見られた。これらの結果から、LIPUS 処置はインスリンシグナルの減弱による C/EBP α の発現抑制と共に、CCN2 の産生亢進を介した PPAR γ の発現抑制によって脂肪細胞分化を抑制すると考えられた。さらに、LIPUS 処置による Agt の発現量の減少は肥満によって引き起こされる高血圧症の軽減の一助となりう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。

Inhibitory mechanism of adipogenesis by low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS)

○Hashitani S¹, Nishida T², Nagao Y¹, Takigawa M³, Kubota S^{2,3}

¹Okayama Univ Sch Dent

²Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

³ARCOCS, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

In the last meeting, we reported that inhibitory effect of low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) on adipogenesis was due to suppression of C/EBP α expression via decreased insulin signaling and that CCN family protein 2 (CCN2) was induced by LIPUS treatment. However, the mechanisms of suppression of adipogenesis by CCN2 is still unclear. The aim of this study is to investigate how CCN2 is induced and how LIPUS-induced CCN2 is involved in inhibition of adipogenesis. After murine preadipocytic 3T3-L1 cells were differentiated to adipocytes, LIPUS treatment was performed for 20 min once a day for 3 days. Formation of lipid droplets and C/EBP α expression was significantly decreased. Interestingly, the gene expression of angiotensinogen (Agt), which is adipokine, was also significantly decreased by LIPUS treatment. Furthermore, LIPUS promoted the formation of F-actin and translocation of YAP protein to the nucleus, leading to up-regulation of CCN2. Next, forced expression of *Ccn2* in 3T3-L1 adipocytes significantly decreased PPAR γ gene expression. These findings suggest that LIPUS suppresses adipogenesis by decreasing the gene expressions of C/EBP α via suppression of insulin signaling and promotion of CCN2 production, respectively. Furthermore, the decreased AGT by LIPUS treatment may lead to amelioration of the hypertension associated with obesity.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

PS1-10 環状オリゴ糖による歯の着色予防の検討

○廣瀬 赳司¹, 吉川 美弘², 津田 進³, 堂前 英資², 鎌田 愛子², 池尾 隆²¹大歯大²大歯大 生化³大歯大 化学

[目的]日常口にする嗜好性飲料には様々な着色成分が含まれている。近年、歯の審美性に対する需要が高まっており、歯の着色を抑制する手法の開発が注目されている。我々は、 α -グルコースが環状に連なったシクロデキストリン (CD) が、カテキン類を代表とする様々な有機化合物をその空孔内に取り込むという包接作用によって複合体を形成することに着目した。すなわち、飲料中の着色成分と CD との複合体形成によって、着色成分の歯面への吸着を抑制できないか検討した。[方法]ヒドロキシアパタイト (HA) ディスクを用いて、種々の飲料による着色実験を行った。飲料中に CD を入れ、HA ディスクを浸漬した後、着色の程度をシェードアイ (測色測定器) にて測定した。測色は Lab 表色系を用いた。色変化の定量化は Lab 空間内における色変化の距離を ΔE として算出した。[結果]まず紅茶を用いて、0.625, 2.5, 10 mM の α -CD, β -CD, γ -CD の着色抑制効果を比較した。 β -CD と γ -CD では、濃度依存的に着色抑制が起きた。また、溶解性に優れている γ -CD を用いてさらに高濃度で検討した結果、300 mM で最も着色が抑制された。そこで、種々の飲料に対して 300 mM γ -CD を加えて検討した結果、ポリフェノールを含む飲料で着色抑制効果が得られた。[結論] β -CD と γ -CD で着色が効果的に抑制された。 γ -CD による着色抑制は、CD の特徴である包接作用によりポリフェノール類が歯面へ吸着されにくくなったことを示唆す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。

Examination of preventing tooth staining by cyclic oligosaccharide

○Hirose T¹, Yoshikawa Y², Tsuda S³, Domae E², Kamada A², Ikee T²¹Undergraduate, Osaka Dent Univ²Dept Biochem, Osaka Dent Univ³Dept Chem, Osaka Dent Univ

In recent years, the demand for dental esthetic treatment has been increasing. There are many ways to whiten the teeth. However, the conventional methods are costly, time-consuming, and damage the tooth structures. We devised a new method to prevent tooth staining caused by food and beverages. Chemicals contact the pellicle, which originates from the saliva and is formed on the tooth surface, and staining substances incorporate in the hydroxyapatite of the tooth. Cyclodextrins (CDs) are cyclic oligosaccharides in which several molecules of α -glucose are linked by α -1,4 bonds. They incorporate various organic compounds into their cavities in an aqueous solution. Catechin, one of the coloring components, is incorporated in CD cavities to form a stable CD-catechin complex. We attempted to prevent staining of the tooth surfaces using CDs as food additives. The shades were examined after applying various beverages containing CDs on the hydroxyapatite discs. We found that the β - and γ -CD prevented tooth staining. In addition, regarding the color suppression effect of various beverages, the color preventive effect of γ -CD was significantly observed in the drinks containing polyphenols. Thus, polyphenols could not adhere to the tooth surface by CD-polyphenol-CD complex formation.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

The 61st Annual Meeting of
Japanese Association for Oral Biology
October 12 – October 14, 2019
Tokyo Dental College, JAPAN



JAOB JAPANESE ASSOCIATION FOR
ORAL BIOLOGY since 1958

Special Lecture Accorded by the LOTTE Foundation (October 13, 10 : 00-11 : 15)

PL1

Composite tissue engineering: Chronotherapy for *in situ* cell differentiation

Nishimura I

Univ Cal Sch Dent, Weintraub Cent for Reconst Biotechnol

PL2

Symbiotic evolution of life and pitfalls of modern medicine

Inoue M

Health Sci Lab& Symbiosis Inst, Osaka City Univ Med Sch

Lecture by JAOB/Lion Dent Research Awards Winner (October 13, 13 : 20-14 : 50)

L1

Application of regenerative medicine for salivary gland hypofunction

Mishima K

Div Pathol, Oral Diag Sci, Showa Univ Sch Dent

JAOB/Rising Members Award Winner (October 14, 9 : 00-10 : 00)

Y1

DKK3 overexpression increases the malignant properties of head and neck squamous cell carcinoma cells

Katase N

Dept Oral Pathol Inst Biomed Sci Nagasaki Univ

Y2

Functional analysis of neutrophil elastase in pneumococcal pneumonia

Domon H

Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Y3

New developments in osteoimmunology

Tsukasaki M^{1,2}

¹Dept Immunol, Grad Sch Med and Fac Med, The Univ of Tokyo, ²Dept Bacterial Infection and Host Response, Grad Sch Med Dent Sci, Tokyo Med Dent Univ

Main symposium 1 (October 12, 14 : 30-16 : 00)

MS1-1

Feasibility of the drug development to increase local bone mass targeting on the RANKL molecule

Aoki K

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

MS1-2

RANKL-RANK signaling regulates M-cell differentiation in the mucosal epithelia

Kimura S^{1,2}, Nakamura Y², Kobayashi N², Iwanaga T¹, Hase K²

¹Lab Histol and Cytol, Grad Sch Med, Hokkaido Univ, ²Div Biochem, Fac Pharma, Keio Univ

MS1-3

Osteoprotegerin, a potential therapeutic target for heart failure

Tsuruda T¹, Udagawa N², Kitamura K³

¹Dept Inter Med, Circulatory and Body Fluid Regulation, Fac Med, Univ of Miyazaki, ²Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ

MS1-4

Studies on Anti-Siglec-15 antibody as an agent for osteoporosis treatment

Tsuda E¹, Fukuda C¹, Udagawa N², Takahashi N², Hasegawa T³, Amizuka N³, Sato D⁴,
Takahata M⁴

¹Spec Med Res Lab1, Daiichi Sankyo Co., Ltd, ²Div Hard Tissue Res Inst for Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, ³Grad Sch Dent Med, Hokkaido Univ, ⁴Grad Sch Med, Dept Orthopaedic Surg, Hokkaido Univ

Main symposium 2 (October 13, 13 : 20-14 : 50)

MS2-1

Regulatory factors of taste cell differentiation

Miura H, Koyanagi E, Harada S

Dept Oral Physiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

MS2-2

The functional role of insulin - mTOR signaling in taste bud organoid

Takai S¹, Margolskee RF², Jiang P², Ninomiya Y^{2,3}, Shigemura N^{1,3}

¹Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, ²Monell Chem Senses Cent, ³R and D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ

MS2-3

Regional and temporal differences in functions of fatty acid receptors in the tongue

Yasumatsu K^{1,2}, Ninomiya Y^{2,3}

¹Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll, ²R&D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ, ³Monell Cent

MS2-4

Genetic identification of sweet taste neurons in the mouse brainstem

Nakajima K¹, Fu O¹, Iwai Y², Kondoh K¹, Misaka T², Minokoshi Y¹

¹Div Endo Metab, Nat Inst Phys Sci, ²Grad Sch Univ of Tokyo

Main symposium 3 (October 14, 13 : 00-14 : 40)

MS3-1

Gene therapy of hypophosphatasia

Takahashi A

Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll

MS3-2

Dental symptoms of hypophosphatasia

Shintani S

Dept Ped Dent, Tokyo Dent Coll

MS3-3

Progress and perspectives of gene therapy of hereditary diseases

Takeda S

Natl Cent of Neurol and Psychiat

JAOB-KAOS symposium (October 12, 16 : 10-17 : 40)

JKS1-1

Identification and functional evaluation of novel signaling molecules involved in tooth development

Jae-Young Kim

Dept Biochem, Sch Dent IHBR, Kyungpook Natl Univ Korea

JKS1-2

Analysis of tooth replacement mechanism using genetically modified medaka fish

Chatani M^{1,2}, Azetsu Y^{1,2}, Dodo Y^{2,3}, Sakai N^{1,2}, Kudo A^{1,2}, Takami M^{1,2}

¹Dept Pharmacol, Sch Dent, Showa Univ, ²Pharmacol Res Cent, Showa Univ, ³Dept Orthopedic Sch Med, Showa Univ

JKS1-3

Exploration of the origin of enamel through analyzing collar enamel of actinopterygians

Nakatomi M¹, Mikami M², Sasagawa I³, Ishiyama M⁴, Kawasaki K⁵

¹Div Anat, Kyushu Dent Univ, ²Dept Microbiol, Nippon Dent Univ at Niigata, ³Adv Res Cent, Nippon Dent Univ at Niigata, ⁴Dept Histol, Nippon Dent Univ at Niigata, ⁵Dept Anthropol, Penn State Univ

Symposium of JAOB (October 13, 15 : 00-16 : 30)

GS1-1

Phosphate homeostasis network and disease

Segawa H, Koike M, Tanifuji K, Sasaki S, Kaneko I, Miyamoto K

Dept Mol Nutr, Inst Biomed Sci, Tokushima Univ Grad Sch

GS1-2

Effects of periodontal pathogens on arteriosclerosis and their preventive strategies

Kurita-Ochiai T

Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

GS1-3

Effects of salivary gland produced physiologically active substances on brain and behavior modification

Saruta J

Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

GS1-4

Effect of activation of intestinal immunity on salivary IgA, "intestinal-salivary gland correlation"

Yamamoto Y

Dept Dent Hyg, Kanagawa Dent Univ Jr Coll

Symposium Cooperated by "Network for International Education and Research in Advanced Dental Sciences" (October 13, 15 : 00-16 : 30)

AD1-1

Programmed necrosis in adipocytes induced by osteocalcin

Otani T¹, Matsuda M², Mizokami A³, Kitagawa N¹, Jimi E^{2,3}, Inai T¹, Hirata M⁴

¹Div Func Struct, Dept Morphol Biol, Fukuoka Dent Coll, ²Lab Mol Cell Biochem, Fac Dent Sci, Kyushu Univ, ³OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ, ⁴Sch Dent Med, Fukuoka Dent Coll

AD1-2

RANKL expression in osteocytes during orthodontic tooth movement

Shoji A^{1,2}, Ono T², Nakashima T^{2,3,4}, Moriyama K¹

¹Maxillofac Orthognathics, Grad Sch Med Dent Sci, Tokyo Med Dent Univ, ²Dept Cell Signal, Grad Sch Med Dent Sci, Tokyo Med Dent Univ, ³Precursory Research for Embryonic Science and Technology (PRESTO), Japan Science and Technology Agency (JST), ⁴Japan Agency for Medical Research and Development Core Research for Evolutional Science and Technology (AMED-CREST)

AD1-3

CD40-CD40L cross-talk in periodontal inflammation and regeneration

Fujihara C, Kanai Y, Masumoto R, Matsumoto M, Kitagaki J, Murakami S

Dept Periodontol, Osaka Univ Grad Sch Dent

AD1-4

Analysis of resident macrophages in target organs of a disease model of autoimmunity

Ushio A, Arakaki A, Kudo Y, Ishimaru N

Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

Dental Innovation Roadmap to 2040—Kickoff symposium (October 14, 9 : 00–11 : 00)

KS1-1

Clinical capability of oral microbiome analysis in dentistry

Yamashita Y

Sect Prevent & Pub Health Dent, Kyushu Univ

KS1-2

Metabolomics reveals hidden metabolic interactions among periodontitis-related microorganisms

Kuboniwa M

Dept Prevent Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent

KS1-3

Long-read NGS-based metagenomics of the human gut microbiome

Hattori M

Fac Sci Engin, Waseda Univ

KS1-4

Oral-gut connection as a mechanism for the association between periodontal and systemic diseases

Yamazaki K

Res Unit Oral-Syst Conn, Div Oral Sci Health Prom, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Symposium of Science Council of Japan (October 14, 9 : 00–11 : 30)

CS1-1

Frontiers of osteoimmunology and infectious disease research

Tsukasaki M^{1,2}

¹Dept Immunol, Grad Sch Med Fac Med, The Univ of Tokyo, ²Dept Bacterial Infection and Host Response, Grad Sch Med Dent Sci, Tokyo Med Dent Univ

CS1-2

A novel anti-inflammatory effect through C1 neurons in medulla

Abe C

Dept Physiol, Gifu Univ Grad Sch Med

CS1-3

Differentiation and function of macrophages and dendritic cells

Ohteki T

Dept Biodefense Res, Med Res Inst, TMDU

CS1-4

Neo-self in metal allergy

Ogasawara K^{1,2}

¹Dept Immunobio, IDAC, Tohoku Univ, ²Dept Immunobio, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Lunchon Seminar 1 (October 14, 11 : 50–12 : 50)

LS1-1

Molecular determinants of ligand specificity in umami taste receptor, T1R1/T1R3

Misaka T

Dept Appl Biol Chem, Grad Sch Agr Life Sci, Univ Tokyo

LS1-2

The peripheral neural pathways for umami taste

Yoshida R

Dept Oral Physiol, Grad Sch Med, Dent and Pharmaceut Sci, Okayama Univ

Lunchon Seminar 2 (October 14, 11 : 50-12 : 50)

LS2

Author workshop for young researchers supported by Elsevier: How to make a scientific paper, search the PubMed, and process images

Ohshima H^{1,2}

¹Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Vice EIC of J Oral Biosci

Joint symposium of Japan Salivary Gland Society and Japanese Association for Oral Biology (October 14, 13 : 00-14 : 40)

KDS1-1

Roles in salivary gland research by Japanese Association for Oral Biology and Japan Salivary Gland Society

Amano O

Div Anat Meikai Univ Sch Dent

KDS1-2

In vivo functional analyses and genetic information for studying salivary hyperfunctions and development of a novel dry mouth treatment

Tanimura A¹, Nezu A¹, Morita T²

¹Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent, ²Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

KDS1-3

Analysis of the mTOR signaling pathway in salivary gland development

Sakai T¹, Sakai M^{1,2}, Ono-Minagi H¹, Ikai K¹, Araie T¹

¹Dept Oral-fac Dis Osaka Univ Grad Sch Dent, ²Dept Clinic Lab, Osaka Univ Dent Hosp

KDS1-4

Regenerating salivary gland with mouse embryonic stem cell-derived salivary gland organoid

Tanaka J, Mishima K

Div Pathol, Dept Oral Diag Sci, Showa Univ, Sch Dent

Update symposium 1 (October 12, 14 : 30-16 : 00)

US1-1

Crucial roles of extracellular vesicles in progression and resistance in oral cancer

Eguchi T

Dept Dent Pharmacol, Grad Sch Med, Dent and Pharmaceut Sci, Okayama Univ

US1-2

Elucidation of the pathophysiology of recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck and molecular targeting agents

Nakamura H

Dept Oral and Maxillofac Surg, Kanazawa Univ Grad Sch of Med Sci

US1-3

Promotion of metastasis by tumor endothelial cells via secretion of biglycan

Maishi N, Hida K

Dept Vascular Biol Mol Pathol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

US1-4

Functional analyses of the molecular chaperone R2TP in the progression of oral squamous cell carcinoma (OSCC) and the identification of its novel targets

Kakahara Y, Saeki M

Div Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Update symposium 2 (October 12, 14 : 30-16 : 00)

US2-1

Nitrate/nitrite promote the growth and nitrite production of oral *Veillonella*

Wicaksono DP^{1,2}, Washio J¹, Takahashi N¹

¹Div Oral Ecol and Biochem, Dept Oral Biol, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ²Dept Pediatr Dent, Airlangga Univ, Surabaya, Indonesia

US2-2

Analysis of oral microbiota in Japanese oral cancer patients using 16S rRNA sequencing

Park J¹, Takahashi Y², Hosomi K³, Yamada T⁴, Kobayashi A⁴, Yamaguchi Y⁴, Iketani S⁴, Kunisawa J³, Mizuguchi K³, Maeda N², Ohshima T²

¹Lab Bioinformatics, Natl Inst Biomed Innovation, Health and Nutr, ²Dept Oral Microbiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³Lab Vaccine Mater, Cent for Vaccine and Adjuvant Res, and Lab Gut Environmental System, Natl Inst Biomed Innovation, Health and Nutr, ⁴Dept Oral and Maxillofac Surg, Southern TOHOKU Res Inst for Neurosci, Southern TOHOKU Gen Hosp

US2-3

Profiling of microbiota in baby-drinks and liquid baby formula consumed with an artificial nipple

Wakui A¹, Sano H¹, Kawachi M¹, Kato R¹, Washio J², Abiko Y², Mayanagi G², Yamaki K², Takahashi N², Sato T¹

¹Div Clin Chem, Dept Med Technol, Niigata Univ Grad Sch Health Sci, ²Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

US2-4

Spatiotemporal analysis of bacterial surfaces treated with antimicrobials

Hirayama S¹, Yoshimasu Y^{1,2}, Senpuku H¹, Nakao R¹

¹Dept Bac I, Natl Inst Infect Dis, ²Grad Sch Bioresour Sci, Nihon Univ

US2-5

Identification of distinct bacterial species in the salivary microbiota of digestive tract cancer patients

Kageyama S

Sect Prevent Dent Public Health, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Update symposium 3 (October 12, 16 : 10-17 : 40)

US3-1

Effects of irradiation in salivary gland

Uchida H

Cent for Oral Biol, Univ of Rochester

US3-2

Regeneration of salivary gland following duct ligation and development of embryonic salivary gland

Ono Minagi H^{1,2}, Usami Y³, Ikai K³, Sakai T¹

¹Osaka Univ Grad Sch Dent/Dept Oral-Facial Disorder, ²JSPS Res Fellow, ³Osaka Univ Grad Sch Dent/Dept Oral Pathol

US3-3

Mechanism for compensation of salivary secretion function in response to duct ligation

Yokoyama M, Katsumata-Kato O, Fujita-Yoshigaki J

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

US3-4

Simultaneous assay system for pancreatic endocrine and exocrine function using organ bath technique

Morita A¹, Ouchi M¹, Satoh K², Fujita T¹

¹Dept Pharmacol, Dokkyo Med Univ Sch Med, ²Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent

Update symposium 4 (October 12, 14 : 30-16 : 00)

US4-1

Overview: differences between odontoblast and osteoblast differentiation to be considered

Ohshima H

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

US4-2

Drug repositioning efficacy of midazolam on odontoblast differentiation from dental pulp cells

Karakida T, Yamamoto R, Saito MM, Chiba R, Yamakoshi Y

Div Biochem and Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

US4-3

Maintenance of hard tissue homeostasis by mesenchymal stem cells

Mizoguchi T

Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll

US4-4

Bioimaging of osteocytic differentiation

Hasegawa T

Deve Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Update symposium 5 (October 12, 16 : 10-17 : 40)

US5-1

Gustatory test in schoolchildren

Ide R, Saiki C, Hashizume N, Imai T

Dept Physiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

US5-2

The contribution of animal models for the study of taste disorders

Sato H, Yin DX, Toyoda H, Katagiri A, Kato T

Dept Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

US5-3

A new insight of tooth growth ~Incremental growth lines in mouse molar dentin represent 8-hour ultradian rhythm~

Ono R^{1,2}, Koike N¹, Inokawa H¹, Tsuchiya Y¹, Umemura Y¹, Yamamoto T², Kanamura N², Yagita K¹

¹Kyoto Pref Univ Med, Dept Physiol and Biosci, ²Kyoto Pref Univ Med, Dept Dent Med

US5-4

High pH-sensitive intracellular Ca^{2+} signaling pathway in odontoblasts

Kimura M, Higashikawa A, Toda H, Ohyama S, Ofusa W, Shibukawa Y

Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

US5-5

Intraoral stress induced atrial remodeling and increased risk of atrial fibrillation in mice

Suita K¹, Yagisawa Y², Hayakawa Y³, Matsuo I⁴, Kawamura N⁴, Ito A², Ishikawa M⁵,

Umeki D², Ohnuki Y¹, Okumura S¹

¹Dept Physiol, ²Dept Orthodont, ³Dept Anesthesiol, ⁴Dept Periodontol, ⁵Dept Oral Anat,

Tsurumi Univ Sch Dent Med

Update symposium 6 (October 12, 16 : 10-17 : 40)

US6-1

Collaboration with researchers and companies in other fields

Yamada Y

Tokyo Dent Jr Coll

US6-2

Continuing own research

Azuma M

Mol Immunol, Grad Sch Med Dent Sci, Tokyo Med Dent Univ (TMDU)

US6-3

Of serendipity and science

Hirata M

Sch Dent Med, Fukuoka Dent Coll

Update symposium 7 (October 14, 10 : 00-11 : 30)

US7-1

Histological study of the pterygoid process during endochondral ossification

Kitamura K

Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll

US7-2

Origin and role of septoclasts in endochondral ossification

Bando Y, Nagasaka A, Sakiyama K, Amano O

Meikai Univ Sch Dent Dept Human Dev Foster Div Anat

US7-3

Distribution of Bmi1 on endochondral ossification

Takebe H, Hosoya A, Shalehin N, Irie K

Dept Histol, Health Sci Univ Hokkaido

US7-4

Neuron/glia antigen 2-type VI collagen interactions during murine temporomandibular joint osteoarthritis

Yotsuya M

Tokyo Dent Coll, Dept Fixed Prosthodont

■ Oral Presentation

(October 12, 16 : 10–16 : 40)

01-01	Inducible expression of the <i>Dgcr2</i> by TGF- β signaling normalizes chondrocyte differentiation in cranial base during maxillofacial development ○Kajiwara K (Dept Mol Life Sci, Tokai Univ, Sch Med)
01-02	The role of Wnt- β catenin signaling in osteocyte differentiation and maintenance of osteocyte differentiation stage ○Kusano S ¹ , Inubushi T ¹ , Murata Y ¹ , Ito S ¹ , Kurosaka S ¹ , Sasaki J ² , Yamashiro T ¹ (¹ Osaka Univ Grad Sch Dent Dept Orthodont, ² Osaka Univ Grad Sch Dent Dept Biomater Sci)
01-03	Repressive effect of low intensity pulsed ultra sound on osteoclast differentiation ○Aoyama E ¹ , Kubota S ² , Takigawa M ¹ (¹ ARCOCS, Okayama Univ, Dent Sch /Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ² Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)

(October 12, 16 : 40–17 : 10)

01-04	Type III collagen is essential for growth acceleration of human osteoblastic cells by ascorbic acid 2-phosphate, a long-acting vitamin C derivative ○Hata R, Maehata Y (Oral Health Sci Res Cent, Kanagawa Dent Univ Grad Sch)
01-05	Expression of VglI3 during osteoblast differentiation ○Ikegame M, Uchibe K, Okamura H (Dept Oral Morphol, Okayama Univ Grad Sch Med, Dent Pharm Sci)
01-06	Osteocyte specific hyaluronic acid disruption reduced bone density in mice model ○Morita C ¹ , Inubushi T ¹ , Itoh S ¹ , Usami Y ² , Toyosawa S ² , Yamaguchi Y ³ , Yamashiro T ¹ (¹ Dept Orthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent, ² Dept Oral Pathol, Osaka Univ Grad Sch Dent, ³ Sanford Burnham Prebys Med Discovery Inst)

(October 12, 17 : 10–17 : 40)

01-07	Glycolysis inhibition increases apoptotic protein expressions via ubiquitin/proteasome system in primary osteoblasts at the early differentiation stage ○Ohnishi T, Chiba N, Matsuguchi T (Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Sch Med Dent)
01-08	Effect of N-acyl homoserine lactone (AHL) on the metabolism of osteoblast ○Okamura H ¹ , Ikegame M ¹ , Yoshida K ² (¹ Dept Oral Morph, Okayama Univ Grad Sch Med, Dent Pharma, ² Dept Oral Health. Promot, Tokushima Univ Grad Sch)
01-09	The effect of chemokine CCL25 on bone tissue ○Takahashi T ¹ , Ninomiya T ² , Hosoya A ³ , Nakamura H ⁴ , Yukita A ⁵ (¹ Lab Animal Phys and Bio, Shizuoka Univ Grad Sch Agri, ² Dept Anat Nihon Univ Sch Dent, ³ Div Hard Tissue Res, Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, ⁴ Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ⁵ Dept Educ (Sci), Shizuoka Univ)

(October 13, 13 : 20–14 : 10)

02-01	Role of miRNA in mouse masseter muscle hypertrophy effect by enforced bite opening ○Umeki D ¹ , Ohnuki Y ² , Ito A ¹ , Yagisawa Y ¹ , Suita K ² , Ishikawa M ³ , Tomonari H ¹ , Okumura S ² (¹ Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent, ² Dept Physio, Tsurumi Univ Sch Dent, ³ Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent)
02-02	Cardiac remodeling caused by occlusal disharmony and its inhibition by co-administration of beta blocker ○Yagisawa Y ¹ , Ohnuki Y ² , Umeki D ¹ , Suita K ² , Ishikawa M ³ , Yagisawa Y ³ , Matsuo I ⁴ , Nakamura Y ¹ , Tomonari H ¹ , Okumura S ² (¹ Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³ Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁴ Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
02-03	The association of beta-adrenergic receptor signaling plays on cardiac dysfunction induced by LPS derived from <i>Porphyromonas gingivals</i> ○Matsuo I (Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent)
02-04	Effects of myocyte differentiation on β -adrenergic receptor expression and its physiological roles ○Ito A ¹ , Ohnuki Y ² , Umeki D ¹ , Suita K ² , Ishikawa M ³ , Yagisawa Y ¹ , Nakamura Y ¹ , Tomonari H ¹ , Okumura S ² (¹ Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³ Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
02-05	Cardiac remodeling caused by enforced bite-opening and its inhibition by co-administration of a cardiac AC blocker (vidarabine) ○Hayakawa Y ¹ , Ohnuki Y ² , Suita K ² , Ishikawa M ³ , Ito A ⁴ , Kawamura N ⁵ , Yagisawa Y ⁴ , Matsuo I ⁵ , Kawahara H ¹ , Okumura S ² (¹ Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³ Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁴ Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁵ Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med)

(October 13, 14 : 10–14 : 40)

02-06	Dominance of histone acetyltransferase is required for induction of short-chain fatty-acid-induced death of human gingival epithelial Ca9-22 cells ○Tsuda H, Suzuki N (Dept Biochem, Nihon Univ Sch Dent)
02-07	Transcriptome analysis of the effect of short-chain fatty acids on gingival epithelial cell death ○Murofushi T, Tsuda H, Suzuki N (Dept Biochem, Nihon Univ Sch Dent)
02-08	Expression of Ca ²⁺ - activated K ⁺ channels in human cementoblast ○Kamata S ¹ , Higashikawa A ² , Kimura M ² , Inoue H ³ , Oyama S ² , Ofusa W ² , Shibukawa Y ² , Yamashita S ¹ (¹ Dept Removable Partial Prosthodont, Tokyo Dent Coll, ² Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, ³ Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll)

(October 13, 14 : 40–15 : 10)

O2-09	Gli1-positive periodontal ligament cells possess stem cell properties and contribute to alveolar bone regeneration ○Shelehin N ¹ , Hosoya A ¹ , Takebe H ¹ , Mizoguchi T ² , Yoshiba N ³ , Yoshiba K ⁴ , Nakamura H ⁵ , Hasan M ¹ , Irie K ¹ (¹ Dept Histol, Health Sci Univ Hokkaido, ² Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll, ³ Div Oral Sci Health Promotion, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁴ Div Oral Sci Health Promotion, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁵ Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ)
O2-10	Mechanical- and reactive oxygen species-sensitive TRPA1 channel mediates tooth movement-induced pain ○Morii A ^{1,2} , Miyamura Y ^{1,3} , Hitomi S ¹ , Shikayama T ^{1,4} , Ujihara I ¹ , Sago-Ito M ² , Gunjigake K ² , Kawamoto T ² , Ono K ¹ (¹ Div Physiol, Kyushu Dent Univ, ² Div Orofac Funct Orthodont, Kyushu Dent Univ, ³ Div Dent Radiol, Kyushu Dent Univ, ⁴ Div Periodontal, Kyushu Dent Univ)
O2-11	Oral epithelial cells inhibit the proliferation, mRNA expressions of collagen type I, RUNX2 and BGP, and ALP activity of osteoblast-like cells in co-culture ○Horikawa T ¹ , Chujo T ¹ , Kokubun K ^{1,2} , Kokubu E ² , Matsuzaka K ¹ (¹ Toyko Dent Coll, Dept Clin Pathophysiol, ² Tokyo Dent Coll, Microbiol)

(October 13, 15 : 10–15 : 50)

O2-12	Mechanistic insights into inhibitory activity of Matcha green tea on <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Takatsuka A ^{1,2} , Ikeda T ³ , Hirayama S ² , Senpuku H ² , Narisawa N ¹ , Nakao R ² (¹ Grad Sch Bioresour Sci, Nihon Univ, ² Dept Bacteriol 1, Natl Inst Infect Dis, ³ Pharm Sci, Sojo Univ)
O2-13	IL-1 β release by living macrophages in response to mycoplasma lipoproteins and lipopeptides ○Saeki A ¹ , Into T ² , Hasebe A ¹ , Suzuki T ³ , Shibata K ¹ (¹ Dept Oral Mol Microbiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ² Dept Oral Microbiol, Asahi Univ Sch Dent, ³ Dept Bacter Pathogenesis, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)
O2-14	The modulatory function of pineal gland hormone melatonin in encephalomyocarditis virus infection ○Kikuchi M ^{1,2} , Kuwata H ² , Kadena M ³ (¹ Dept Community Based Comprehensive Dent, Showa Univ, ² Dept Oral Microbiol, Showa Univ, ³ Dept Clinic for Persons with Disorders, Showa Univ)
O2-15	The inhibitory effects of MPMBP on Toll-like receptor (TLR) 2 ligand-induced proinflammatory cytokine production ○Tamai R ¹ , Suzuki K ² , Mashima I ¹ , Kiyoura Y ¹ (¹ Dept Oral Med Sci, Ohu Univ Sch Dent, ² Dept Pharmacol, Showa Univ Sch Dent)

(October 13, 15 : 50–16 : 20)

O2-16	Effect of lamin A mutant, progerin, on osteoblast differentiation of MC3T3-E1 cells ○Takahashi T, Ohashi A, Ninomiya T (Dept Anat Nihon Univ Sch Dent)
O2-17	The role of Lipin2 in the regulation of proinflammatory signaling in macrophages ○Watahiki A ^{1,2} , Shimizu K ² , Hoshikawa S ^{2,3} , Chiba M ^{2,3} , Fukumoto S ^{2,3} , Egusa H ^{1,2} , Inuzuka H ² (¹ Div Mol Regen Prosthodont, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ² Cent for Adv Stem Cell and Regen Res, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ³ Div Ped Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
O2-18	Glucagon-like peptide-1 receptor signaling is required in osteocalcin-mediated improvement of whole body metabolism ○Mizokami A ¹ , Mukai S ^{1,2} , Takeuchi H ³ , Jimi E ^{1,2} , Hirata M ⁴ (¹ OB Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² Lab Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³ Div Appl Pharmacol, Kyushu Dent Univ, ⁴ Fukuoka Dent Coll)

(October 13, 13 : 20–13 : 50)

O2-19	Influenza infection-induced chaperoning activity of GP96 promotes pneumococcal adherence to alveolar epithelial cells ○Sumitomo T, Nakata M, Yamaguchi M, Kawabata S (Dept Oral Mol Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
O2-20	<i>Fusobacterium nucleatum</i> induces the production of extracellular traps by human mast cells, resulting in induction of inflammatory responses ○Tada H ¹ , Nishioka T ² , Matsushita K ³ , Sugawara S ¹ (¹ Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ² Div Oral Diag, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ³ Dept Oral Dis. Res, NCGG)
O2-21	Detection of oral <i>Veillonella</i> glycolysis ○Mashima I ¹ , Nakazawa F ² , Tamai R ¹ , Kiyoura Y ¹ (¹ Dept Oral Med Sci, Sch Dent, Ohu Univ, ² Dept Oral Biol Fac Dent Univ Indonesia)

(October 13, 13 : 50–14 : 30)

O2-22	Evaluation of high resistant mechanism against nisin A in nisin A high resistant MRSA ○Kawada-Matsuo M ¹ , Watanabe A ^{1,2} , Komatsuzawa H ³ (¹ Dept Oral Microbiol, Grad Sch Med and Dent, Kagoshima Univ, ² Dept Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, Grad Sch Med and Dent, Kagoshima Univ, ³ Dept Bacteriol, Grad Sch Biomed, Hiroshima Univ)
O2-23	A cargo protein, PorA, of the type IX secretion system (T9SS) acts as a T9SS regulator upstream of the two-component system PorXY and the ECF sigma factor SigP ○Nakayama K, Yukitake H, Shoji M, Sato K, Naito M (Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch BioMed Sci)
O2-24	Effects of nitrite ions on <i>Streptococcus mutans</i> ○Murakami K, Fujii H (Dept Oral Microbiol Inst Biomed Sci, Tokushima Univ Grad Sch)
O2-25	Effects of regulatory genes to virulence factors on GTF-dependent Membrane vesicles in <i>Streptococcus mutans</i> ○Nakamura T ¹ , Iwabuchi Y ² , Narisawa N ¹ , Nakao R ² , Senpuku H ² (¹ Grad Sch Bioresour. Sci, Nihon Univ, ² Dept Bacteriol 1, Nat Inst Infect Des)

(October 13, 14 : 30–15 : 00)

O2-26	Restoration of intact <i>nra</i> transcriptional regulator into serotype M18 <i>Streptococcus pyogenes</i> induced thermosensitive pilus production ○Li Y ¹ , Nakata M ¹ , Sumitomo T ¹ , Hirose Y ¹ , Takemura M ¹ , Yamaguchi M ¹ , Okahashi N ² , Kawabata S ¹ (Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, ² Cent Frontier Oral Sci, Osaka Univ Grad Sch Dent)
O2-27	<i>Streptococcus pyogenes</i> alters gene expression by arginine metabolism under glucose-limited condition ○Hirose Y, Yamaguchi M, Hanada T, Sumitomo T, Nakata M, Kawabata S (Dept Oral Mol Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
O2-28	Green tea-derived epigallocatechin gallate inhibited the acid production of <i>Streptococcus mutans</i> and promoted the bacterial aggregation ○Han S ^{1,2} , Abiko Y ¹ , Washio J ¹ , Luo Y ^{1,3} , Zhang L ² , Takahashi N ¹ (Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ² Dept Cariol Endodont, Sichuan Univ West China Sch Stomatol, ³ Dept Cariol Endodont, Fujian Med Univ Sch Stomatol)

(October 13, 15 : 00–15 : 30)

O2-29	Observation on the spine of green spotted puffer fish ○Kikuchi N, Ishikawa N, Kitamura K, Yamamoto H (Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll)
O2-31	The role of acetyl-CoA carboxylase in oral squamous cell carcinoma cells ○Ito G ^{1,2} , Takagi R ² , Terunuma M ¹ (Dept Oral Biochem, Niigata Univ Grad Sch Med& Dent, ² Dept Oral Maxillofac Surg, Niigata Univ Grad Sch Med Dent)

(October 13, 15 : 30–16 : 00)

O2-32	The suppressive effects of malocclusion on cognitive ability ○Maeshiba M ^{1,2} , Kajiya H ^{1,3} , Tsutsumi T ² , Goto K ¹ , Ohno J ¹ (Res Cent Regen Med, Fukuoka Dent Coll, ² Dep Oral Grow Develop, Fukuoka Dent Coll, ³ Dep Physiol Sci Mol Biol, Fukuoka Dent Coll, ⁴ Dept Dent Hygi, Fukuoka Coll Health Sci)
O2-33	Role of insulin-like growth factor-1 in face mechanical allodynia following infraorbital nerve injury ○Sugawara S ¹ , Shinoda M ² , Iwata K ² (Dept Phychomatic Dent, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent)
O2-34	Human dental stem cells promote neurogenesis and protect neuronal cells from oxidative stress in adult mouse organotypic brain slices in vitro ○Xiao L, Saiki C, Ide R (Dept Pharm, Nippon Dent Univ Sch Life Dent)

(October 13, 16 : 00–16 : 30)

O2-35	Thalamic projections from the external cuneate nucleus conveying proprioception arising from the neck and forelimb ○Uemura Y, Sato F, Furuta T, Ohara H, Tsutsumi Y, Ikenoue E, Yoshida A (Dept Oral Anat Neurobiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
O2-36	Changes in orofacial somatosensory sensitivity induced by chronic intermittent hypoxia in rats ○Kishimoto S ^{1,2} , Katagiri A ² , Oyamaguchi A ¹ , Niwa H ¹ , Kato T ² (Dept Dent Anesth, Osaka Univ Grad Sch Dent, ² Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
O2-37	Wnt5a, secreted by mechanically stimulated rat periodontal ligament cells, promotes peripheral axonal outgrowth via MEK1/2 and PI3K pathways ○Takahashi K, Yoshida T, Wakamori M (Div Mol Pharmacol Cell Biophys, Tohoku Univ Grad Sch Dent)

(October 13, 13 : 20–13 : 50)

O2-38	The G-protein coupled receptor Gpr115 regulates expression of the carbonic anhydrase in ameloblast during enamel formation ○Chiba Y ¹ , Saito K ¹ , Yoshizaki K ² , Fukumoto S ^{1,3} (Div Ped Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ² Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³ Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
O2-39	The role of p130Cas in enamel maturation of mice ○Inoue A ¹ , Nakatomi C ² , Nakatomi M ³ , Shin M ⁴ , Okabe K ⁴ , Ohshima H ⁵ , Matsuda M ¹ , Jimi E ¹ (Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ, ³ Div Anat, Kyushu Dent Univ, ⁴ Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll, ⁵ Div Anat Cell Biol Hard Tissue Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)
O2-40	Analysis of brain and face development by small tag knock-in mouse using genome editing GONAD method ○Aoto K ¹ , Takabayashi S ² , Miyazaki T ¹ , Saitou H ¹ (Dept Biochem, Hamamatsu Univ Sch Med, ² Lab Animal Facilities & Services, Hamamatsu Univ Sch Med)

(October 13, 13 : 50–14 : 20)

O2-41	Effects of rice fermented extracts on the differentiation of odontoblast-like cells (KN-3) ○Okamoto K ^{1,2} , Kakiyama Y ^{2,3} , Thant L ³ , Washio A ⁴ , Kitamura C ⁴ , Yamamura K ¹ , Saeki M ³ (Div Oral Physiol, Niigata Univ Grad Sch Med& Dent, ² Niigata Univ Dept Sakeology, ³ Div Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent, ⁴ Div Endodont and Restor Dent, Dept Oral Functions, Kyushu Dent Univ)
O2-42	Gene expression of dentin formation related factors in dental pulp of mouse molar, after tooth eruption ○Kano T ¹ , Morita T ¹ , Sumida K ¹ , Yumoto H ² , Baba O ¹ (Dept Maxillofac Anat Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, ² Dept Periodontol Endodont, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)
O2-43	Induction of epithelial cells from human induced pluripotent stem (iPS) cells using single cell culture method ○Futemma T, Toriumi T, Honda M (Dept Oral Anat, Aichi Gakuin Univ Sch Dent)

(October 13, 14 : 20–15 : 00)

02-44	PRIP regulates talin1 dimerization by binding to its dimerization domain, and controls fibronectin/integrin-mediated cell adhesion ○Asano S ¹ , Kanematsu T ^{1,2} (¹ Dept Cell Mol Pharmacol, Hiroshima Univ, ² Dept Cell Biol Pharmacol, Kyushu Univ)
02-45	Ets family proteins regulate aggressiveness of head and neck cancer cells ○Saitoh M (Dept Biol Chem Univ Yamanashi)
02-46	The chemical stress induces Programmed cell death 1ligand 2 (PD-L2) expression via JAK/STAT pathway in oral squamous cell carcinoma ○Sudo S ^{1,2} , Kajiya H ¹ , Shin M ¹ , Okamoto F ¹ , Hiraki A ² , Okabe K ¹ (¹ Dep Physiol Sci Mol Biol, Fukuoka Dent Coll, ² Dep Oral Maxillofac Surg, Fukuoka Dent Coll)
02-47	Pontin/Reptin complex contributes to the development of oral squamous cell carcinoma by stabilizing HEATR1 ○Nakamura A ¹ , Kiguchi T ¹ , Funayama A ² , Kakahara Y ¹ , Saeki M ¹ (¹ Div Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Div Reconstruct Surg Oral Maxillofac Reg, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)

(October 13, 15 : 00–15 : 40)

02-48	Alteration of blood vessels during the tongue cancer development in 4NQO-induced carcinogenesis ○Usami Y, Shirogane Y, Hirose K, Sato S, Toyosawa S (Dept Oral Pathol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
02-49	miR-125b accumulated in bone matrix suppresses osteolytic bone metastasis ○Sarmin N, Minamizaki T, Yoshiko Y (Dept Calcif Tissue Biol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)
02-50	Anti-canceractivity of novel ligands for the telomere structure ○Fukuda H ¹ , Higashi S ² , Ohsumi T ² , Takeuchi H ² (¹ Kyushu Dent Univ Div Oral Maxillofac Surg, ² Kyushu Dent Univ Div Appl Pharmacol)
02-51	Development of a tumor organoid-based drug screening system ○Sogawa C ¹ , Eguchi T ^{1,4} , Ohyama K ¹ , Okusha Y ¹ , Nakano K ² , Sogawa N ³ , Okamoto K ¹ (¹ Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ² Dept Oral Pathol, Okayama Univ, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ³ Dept Dent Pharm, Matsumoto Dent Univ, ⁴ Adv Res Cent Oral and Craniofac Sci, Okayama Univ, Grad Sch Med Dent Pharm Sci)

(October 13, 15 : 40–16 : 20)

02-52	Associations between groove/cusp pattern and crown size in mandibular second molars ○Kondo S ¹ , Manabe Y ² (¹ Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ² Dept Oral Anat Dent Anthropol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
02-53	Assessment of root fusion and the depth of root groove in the maxillary and mandibular second molars lost by periodontal disease progression ○Kato A ¹ , Mitani A ² , Honda M ¹ (¹ Dept Oral Anat, Sch Dent, Aichi Gakuin Univ, ² Dept Periodontol, Sch Dent, Aichi Gakuin Univ)
02-54	The effects of advanced glycation end products (AGEs) on calcification in cultured rat dental pulp cells ○Sugiyama K ¹ , Miura J ¹ , Takashima A ¹ , Shimizu M ¹ , Kayashima H ² (¹ Div Interdisci Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent, ² Dept Fixed Prosthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent)
02-55	Chronological changes in oral tissues of obese type 2 diabetes model TSOD mice ○Iida-Yonemochi H, Ohshima H (Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)

(October 14, 9 : 30–10 : 20)

03-01	Analysis of dentin bridge formation mechanism by canonical Wnt signaling ○Hara M, Horibe K, Hiraga T, Nakamura H (Dept Oral Anat, Matsumoto Dent Univ)
03-02	Depletion of odontoblasts induces dentin formation ○Zhao L ¹ , Arai A ² , Udagawa N ³ , Hosoya A ⁴ , Okabe K ⁵ , Shinn M ⁵ , Li X ⁶ , Kabayashi Y ¹ , Takahashi N ¹ , Mizoguchi T ⁷ (¹ Inst for Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, ² Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ, ³ Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ, ⁴ Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ⁵ Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll, ⁶ Dept Oral Maxillofac Surg, Matsumoto Dent Univ, ⁷ Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll)
03-03	Analysis of negatively regulated odontoclast/osteoclast formation in dental pulp environment ○Nishida D ¹ , Arai A ² , Udagawa N ³ , Nakamura M ³ , Horibe K ⁴ , Kobayashi Y ⁵ , Takahashi N ⁵ , Mizoguchi T ¹ (¹ Tokyo Dent Coll, Oral Health Sci Cent, ² Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ, ³ Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ, ⁴ Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ, ⁵ Inst for Oral Sci, Matsumoto Dent Univ)
03-04	Spontaneous development of dental dysplasia in aged Parp-1 knockout mice ○Fujihara H ^{1,2,3} , Nozaki T ^{1,4} , Isumi M ⁵ , Shimoda S ⁵ , Hamada Y ² , Masutani M ^{1,5} (¹ Natl Cancer Cent Res Inst, ² Dept Oral Maxillofac Surg, Sch Dent Med, Tsurumi Univ, ³ Dept Dent Hygiene, Tsurumi Jr Coll, ⁴ Dept Pharmaco, Fac Dent, Osaka Dent Univ, ⁵ Dept Frontier Life Sci, Grad Sch Biochem Sci, Nagasaki Univ, ⁶ Dept Oral Anat, Sch Dent Med, Tsurumi Univ)
03-05	The role of Fam20C on the tooth dentin formation ○Naniwa K ^{1,2} , Hirose K ¹ , Usami Y ¹ , Oya K ¹ , Sato S ¹ , Komori T ³ , Toyosawa S ¹ (¹ Osaka Univ Grad Sch Dent Dept Oral Pathol, ² Osaka Univ Grad Sch Dent Dept Oral Surg2, ³ Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci Dept Cell Biol)

(October 14, 10 : 20–11 : 20)

03-06	Effects of extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells in osteoporosis model mice ○Murata S ^{1,2} , Sonoda S ¹ , Uehara N ¹ , Kyumoto Y ¹ , Takahashi I ² , Kukita T ¹ , Yamaza T ¹ (¹ Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
--------------	---

03-07	<p>Basic research of autologous transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth to biliary atresia ○Sonoda S, Murata S, Kyumoto Y, Uehara N, Kukita T, Yamaza T (Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent)</p>
03-08	<p>The role of heparan sulfate on the craniofacial morphogenesis ○Nakanishi Y¹, Inubushi T¹, Matsumoto Y², Yamaguchi Y³, Yamashiro T¹ (¹Osaka Univ Grad Sch Dent Dept Orthodont, ²Dept Orthopaedic Surg Kyushu Univ Sch Med, ³Sanford Burnham Prebys MEDICAL DISCOVERY INSTITUTE Genetic Disease Program)</p>
03-09	<p>Effect of senescence cells induced by material implantation for bone regeneration ○Honda Y¹, Huang A², Hashimoto M³, Iwasaki K¹, Baba S² (¹Inst Dent Res, Osaka Dent Univ, ²Dept Oral Implant, Osaka Dent Univ, ³Fac. Health Sci, Dept Oral Health Sci, Osaka Dent Univ)</p>
03-10	<p>Development of residual tooth recognition model by machine learning and its analysis with visualization of learning process ○Seino Y, Ohshima H (Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)</p>
03-11	<p>Involvement of aging and estrogen signaling in the accumulation of senescence-associated T-lymphocytes in the salivary glands ○Kurosawa M, Furukawa M, Matsushita K, Shikama Y (Dept Oral Dis Res, NCGG)</p>
02-30	<p>A new approach to examine the palate development mechanism ○Inubushi T¹, Hirose T¹, Yoshida N¹, Kurosaka H¹, Sugiyama H², Yamashiro T¹ (¹Dept Orthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent, ²Kyoto Univ, Grad Sch Sci, Div Chem)</p>

■ Poster Presentation

(October 12, 17 : 50-18 : 40)

P1-01	The study of lends and finger exposure ○Iwawaki A ¹ , Ootaka U ² , Asami R ¹ , Ishii T ¹ , Saka H ^{1,3} (¹ Div Forensic Odontol, Dept. Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent, ² Div Dent Radiol, Dept. Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent, ³ Forensic Odontol center, Meikai Univ Sch Dent)
P1-02	Basic research of autologous transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth to biliary atresia ○Sonoda S, Murata S, Kyumoto Y, Uehara N, Kukita T, Yamaza T (Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
P1-03	Establishment of live imaging method of palatal shelves during secondary palate development ○Nagasaka A ¹ , Sakiyama K ¹ , Bando Y ¹ , Ogasawara Y ^{1,2} , Onozawa G ^{1,3} , Amano O ¹ (¹ Div Anat, Meikai Univ Sch Dent, ² Div Second Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch Dent, ³ Div First Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch Dent)
P1-04	Examining the localization of M2 macrophages and Tcf4-positive fibroblasts during the process of skeletal muscle regeneration ○Ogawa Y ¹ , Koresawa T ¹ , Hashimoto K ¹ , Hashimoto C ¹ , Yamamoto Y ¹ , Hirouchi H ¹ , Yamamoto M ¹ , Matsunaga S ¹ , Satou M ² , Abe S ¹ (¹ Dept Anat, Tokyo Dent Coll, ² Lab Biol, Tokyo Dent Coll)
P1-05	Effects of extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells in osteoporosis model mice ○Murata S ^{1,2} , Sonoda S ¹ , Uehara N ¹ , Kyumoto Y ¹ , Takahashi I ² , Kukita T ¹ , Yamaza T ¹ (¹ Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
P1-06	Comparison of age estimation accuracy for maxillary premolars using micro CT ○Asami R ¹ , Aboshi H ² , Iwawaki A ¹ , Ishii T ¹ , Ohtaka Y ³ , Otake K ⁴ , Abe S ⁵ , Saka H ^{1,6} (¹ Meikai Univ Sch Dent Div Forensic Odontol, ² Nihon Univ Sch Dent Dept Leg Med, ³ Meikai Univ Sch Dent Div Dent Radiol, ⁴ Tokyo Dent Coll Dept Oral Maxillofac Radiol, ⁵ Tokyo Dent Coll Dept Anat, ⁶ Meikai Univ Sch Dent Forensic Odontol Center)
P1-07	Morphological basic examination of Japanese fibula for osseointegrated implant installation after maxillofacial reconstruction ○Hirouchi H, Ogawa Y, Hashimoto C, Takagi T, Yamamoto Y, Matsunaga S, Abe S (Dept Anat, Tokyo Dent Coll)
P1-08	Relationship between tongue cancer and High mobility group box 1 (HMGB1) ○Ogasawara Y ¹ , Sakiyama K ¹ , Onozawa G ¹ , Nagasaka A ¹ , Bando Y ¹ , Amano O ¹ (¹ Dept Anat, Meikai Univ Sch Dent, ² Dept Oral Surg 2, Meikai Univ Grad Sch Dent)
P1-09	Relationship between cognitive impairment and salivary metabolites in elderly nursing home residents ○To M ¹ , Saruta J ¹ , Yamamoto Y ² , Sakaguchi W ¹ , Matsuo M ¹ , Tsukinoki K ¹ (¹ Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ² Dept Junior Coll, Kanagawa Dent Univ Sch Dent Hygiene)
P1-10	The effects of maxillary molar extraction on the neurodegeneration of the trigeminal mesencephalic nucleus in C57BL/6J mice ○Dhar A, Kuramoto E, Iwai H, Yamanaka A, Goto T (Dept Oral Anat & Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med & Dent)
P1-11	A case report of a divided molar found in domestic cattle: a new type of anomalous tooth ○Kodera R ¹ , Chiba T ² (¹ Dept Anat Histocytol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
P1-12	Development of residual tooth recognition model by machine learning and its analysis with visualization of learning process ○Seino Y, Ohshima H (Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)
P1-13	The expression of TRPV4 for cartilage in the mice femur ○Tabaru A ¹ , Gao WQ ¹ , Cao AL ^{1,2} , Ohsaki Y ¹ , Honda Y ¹ , Uchino K ¹ , Nishida K ¹ , Kido MA ^{1,2} (¹ Dept Anat Physiol, Saga Med Sch, ² Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
P1-14	Effects of low serum or hypoxia upon IL-1 α production and immunosuppressive activity of mouse oral squamous cell carcinoma (OSCC), Sq1979 cells ○Matsunami A ¹ , Kamiya M ^{2,3} , Kawaki H ² , Takayama E ² , Umemura N ² , Ueno K ² , Ando M ² , Muramatsu Y ¹ , Sumitomo S ¹ , Kondoh N ² (¹ Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent, ² Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, ³ Dept Chem, Asahi Univ Sch Business)
P1-15	Analysis of KLF5 gene expression and regulation mechanisms ○Tomiyama N (Dept Biochem, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
P1-16	TGF- β isoforms in the process of enamel formation ○Chiba R, Karakida T, Yamamoto R, Yamakoshi Y (Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ)
P1-17	HUCPVC as an alternative cell of MSC in regenerative medicine ○Nonoyama S ¹ , Karakida T ² , Yamamoto R ² , Nagano T ¹ , Yamakoshi Y ² , Gomi K ¹ (¹ Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
P1-18	(withdrawn)
P1-19	The effect of heating on the metabolic activity of cancer cell ○Kobayashi Y, Washio J, Shinohara Y, Takahashi N (Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
P1-20	Zoledronate inhibits differentiation of human CD14 ⁺ monocytes into osteoclasts by RANKL through up regulation of IRF8 expression ○Takimoto R ¹ , Tanaka M ^{1,2} , Sasa K ² , Yamada A ² , Miyamoto Y ² , Suzawa T ² , Yoshikura K ² , Kamijo R ² (¹ Dept Oral and Maxillofac Surg, Showa Univ Sch Dent, ² Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent)
P1-21	Elucidation of molecular mechanisms and functional roles of Notch signaling molecule Hes1 in BMP9- induced osteoblast differentiation ○Seong C ^{1,2} , Ohnishi T ² , Chiba N ² , Matsuguchi T ² (¹ Dept Oral Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent, ² Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent)

P1-22	The inhibitory effect of a new NIK inhibitor on osteoclastic bone resorption ○Takakura N ^{1,2} , Matsuda M ¹ , Hiura F ¹ , Kitamura C ² , Jimi E ^{1,3} (Lab Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² Div Endodont Restor Dent, Kyushu Dent Univ, ³ Oral health Brain health Total health Res Cent, Kyushu Univ)
P1-23	Effects of multiple ions derived from S-PRG fillers mediated by some of MAPK signaling pathways ○Ishigure H ¹ , Kawaki H ² , Ueno K ² , Shimizu S ¹ , Umemura N ² , Kamiya M ³ , Takayama E ² , Nikaido T ¹ , Hotta M ⁴ , Kondoh N ² (Dept Oper Dent, Asahi Univ Sch Dent, ² Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, ³ Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin, ⁴ Asahi Univ)
P1-24	Evaluation of ethanol extract of Brazilian Green Propolis on the human primary cell activities ○Tsuruta H ¹ , Kawaki H ² , Ikeno K ³ , Nakamura G ³ , Umemura N ² , Kamiya M ⁴ , Takayama E ² , Nikaidoh T ¹ , Hotta M ⁵ , Kondoh N ² (Dept Oper Dent, Asahi Univ Sch Dent, ² Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, ³ AKITAYAHONTEN CO., LTD., ⁴ Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin, ⁵ Asahi Univ)
P1-25	Evaluation of S-PRG filler eluate after cation-exchange using zeolite pellet ○Ueno K ¹ , Kawaki H ¹ , Tatsumi Y ² , Isono T ² , Umemura N ¹ , Kamiya M ³ , Takayama E ¹ , Nikaido T ² , Hotta M ⁴ , Kondoh N ¹ (Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, ² Dept Oper Dent, Asahi Univ Sch Dent, ³ Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin, ⁴ Asahi Univ)
P1-26	Effect of dexmedetomidine on cardiorespiratory dynamics in adult rats ○Kitajima Y, Saiki C, Hashizume N, Ide R, Nagakura Y, Imai T (Dept Physiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
P1-27	Hinokitiol induces Ca ²⁺ -response through TRP channels activation ○Okamoto H ¹ , Kajita K ¹ , Yano H ² (R&D Dept, Healthcare Div, KOBAYASHI Pharmaceut Co., Ltd, ² Core Technol Res Dept, Central R&D Lab, KOBAYASHI Pharmaceut Co., Ltd)
P1-28	Expression of Ca ²⁺ -activated K ⁺ channels in human cementoblast ○Kamata S ^{1,2} , Higashikawa A ² , Kimura M ² , Inoue H ³ , Oyama S ² , Ofusa W ² , Shibukawa Y ² , Yamashita S ¹ (Dept Removable Partial Prosthodont, Tokyo Dent Coll, ² Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, ³ Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll)
P1-29	The role of the area postrema in the mechanism of tranexamic acid-induced nausea ○Fujita M, Hirai Y, Hisadome K, Funahashi M (Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Med Dent)
P1-30	Changes in orofacial somatosensory sensitivity induced by chronic intermittent hypoxia in rats ○Kishimoto S ^{1,2} , Katagiri A ² , Oyamaguchi A ¹ , Niwa H ¹ , Kato T ² (Dept Dent Anesth, Osaka Univ Grad Sch Dent, ² Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
P1-31	Effects of imidapril on swallowing motor activity in nerves innervating infrahyoid and laryngeal muscles ○Moriya T ^{1,2} , Nakayama K ¹ , Nakamura S ¹ , Mochizuki A ¹ , Dantsuji M ¹ , Inoue T ¹ (Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent, ² Dept Maxillofac Oral Surg, Showa Univ Sch Dent)
P1-32	Effects of administration of dopamine receptor antagonists to the striatum on induction of swallowing reflex in the rat ○Tsuji K, Takahashi M, Satoh Y (Dept Physiol, Nippon Dent Univ at Niigata)
P1-33	Enhancement of CCL2 signaling due to neonatal traumatic stress is involved in adult traumatic hypersensitivity ○Soma K ^{1,2} , Shinoda M ² , Shirakawa T ¹ , Iwata K ² (Dept Pediatr Dent, Nihon Univ Sch Dent, ² Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent)
P1-34	Mechanical stimulation-induced intracellular free Ca ²⁺ concentration increase in human odontoblast ○Matsunaga M ^{1,2} , Kimura M ² , Toda H ² , Oyama H ² , Ofusa W ² , Higashikawa A ² , Shibukawa Y ² , Ichinohe T ¹ (Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll, ² Dept Physiol, Tokyo Dent Coll)
P1-35	TRPV1 contribute to Facial mechanical hyperalgesia in mouse asthma model ○Cao AL ^{1,2} , Gao WQ ¹ , Yoshimoto RU ^{1,2} , Aijima R ³ , Ohsaki Y ^{1,2} , Honda Y ¹ , Uchino K ¹ , Nishida K ¹ , Tabaru A ¹ , Kido MA ^{1,2} (Dept Anat and Physiol, Saga Med Sch, ² Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³ Dept Oral and Maxillofac Surg, Saga Med Sch)
P1-36	Activation of glial cells via IFN- γ signaling is involved in an enhancement of orofacial neuropathic pain ○Asano S ^{1,2} , Sugawara S ^{2,3} , Okada-Ogawa A ¹ , Shinoda M ² , Iwata K ² , Imamura Y ¹ (Dept Oral Diagnostic Sci, Nihon Univ Sch Dent, ² Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent, ³ Dept Psychosomatic Dent, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)
P1-37	Different effects between trigeminal sensory and vagal-visceral input on salivary glands blood flow ○Ramadhani R, Mito K, Sato T, Ishii H (Div Physiol, Dept Oral Biol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)
P1-38	Role of insulin-like growth factor-1 in face mechanical allodynia following infraorbital nerve injury ○Sugawara S ¹ , Shinoda M ² , Iwata K ² (Dept Psychomatic Dent, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent)
P1-39	P2X7 receptor-pannexin-1-P2X4 receptor interaction in rat trigeminal ganglion neurons: electrophysiological study ○Inoue H ¹ , Kuroda H ² , Ishikawa N ³ , Ohyama S ⁴ , Higashikawa A ⁴ , Kimura M ⁴ , Shibukawa Y ⁴ , Ichinohe T ¹ (Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll, ² Dept Crit Care Med Dent, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ³ Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll, ⁴ Dept Physiol, Tokyo Dent Coll)
P1-40	Mechanosensitive characteristics of rat squamous cell carcinoma cells ○Ishizaki M ^{1,2} , Ohyama S ¹ , Ohfusa W ¹ , Higashikawa A ¹ , Kimura M ¹ , Shibukawa Y ¹ , Ichinohe T ² (Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, ² Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll)
P1-41	Immunohistochemical localization of imidazoline 1 receptors in cardiorespiratory control system in rat brainstem ○Nagakura Y, Ide R, Saiki C, Kitajima Y, Hashizume N, Imai T (Dept Physiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
P1-42	Mechanical stimulation-induced intercellular communication of trigeminal ganglion neurons ○Yazaki T ^{1,2} , Oyama S ¹ , Ofusa W ¹ , Toda H ¹ , Kuroda H ³ , Higashikawa A ¹ , Kimura M ¹ , Shibukawa Y ¹ , Ichinohe T ² (Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, ² Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll, ³ Dept Crit Care Med Dent, Kanagawa Dent Univ)
P1-43	Effects of highly-residual ointments with steroids on oral ulcerative mucositis ○Naniwa M ^{1,2} , Hitomi S ¹ , Ujihara I ¹ , Shikayama T ³ , Matsuda K ⁴ , Yoshino K ⁵ , Ono K ¹ (Div Physiol, Kyushu Dent Univ, ² Dept Oral Health Sci, Kyushu Dent Univ, ³ Div Periodontal, Kyushu Dent Univ, ⁴ Daiichi Sankyo Healthcare Co. Ltd., ⁵ Sect Primary Dent Educ, Kyushu Dent Univ)

P1-44	Expression of small leucine-rich proteoglycans (SLRPs) in developing mouse molar tooth germ ○Angammana R, Shibata S (Dept Maxillofac Anat Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent)
P1-45	The G-protein coupled receptor Gpr115 regulates expression of the carbonic anhydrase in ameloblast during enamel formation ○Chiba Y ¹ , Saito K ¹ , Yoshizaki K ² , Fukumoto S ^{1,3} (¹ Div Ped Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ² Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³ Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
P1-46	Novel dental implant of Ce-TZP/Al ₂ O ₃ induces bone-like apatite crystals ○Saito MM, Onuma K, Yamamoto R, Yamakoshi Y (Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
P1-47	Histochemical assessment of minimodeling-based bone formation induced by eldcalcitol in osteoporotic rat model ○Hasegawa T ¹ , Yamamoto T ² , Hongo H ¹ , Sakai S ³ , Yogo K ² , Amizuka N ¹ (¹ Dept Dev Bio Hard, Grad Sch Dent Med, Hokkaido Univ, ² Dept Dent, Japan Ground Self-Defense Force, ³ Chugai Pharm, Co., Ltd.)
P1-48	miR-125b accumulated in bone matrix suppresses osteolytic bone metastasis ○Sarmin N, Minamizaki T, Yoshiko Y (Dept Calcif Tissue Biol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)
P1-49	Effect of retinoids on keratinization of 3D keratinocyte culture ○Ishikawa S ^{1,2} , Kitagawa N ¹ , Otani T ¹ , Ogata K ¹ , Inai T ¹ (¹ Fukuoka Dent Coll, Dept Morphological Biol, ² Fukuoka Dent Coll, Oral Growth and Development)
P1-50	Expression of extracellular proteases in the aged mouse mandible using comprehensive gene expression analysis ○Kageyama Y ^{1,2} , Nakamura M ² , Igari Y ¹ , Yamaguchi S ¹ , Hattori Y ¹ , Sasano Y ² (¹ Div Aging & Geriatr Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ² Div Craniofac Dev Tissue Biol, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
P1-51	Gli1-positive periodontal ligament cells possess stem cell properties and contribute to alveolar bone regeneration ○Shelehin N ¹ , Hosoya A ¹ , Takebe H ¹ , Mizoguchi T ² , Yoshiba N ³ , Yoshiba K ⁴ , Nakamura H ⁵ , Hasan M ¹ , Irie K ¹ (¹ Dept Histol, Health Sci Univ Hokkaido, ² Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll, ³ Div Cariol Oper Dent Endod, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁴ Div Oral Sci Health Promotion, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁵ Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ)
P1-52	Mechanosensitive ion channel Piezo2 and inflammation in bone metabolism in allergy model mouse ○Gao WQ ¹ , Cao AL ^{1,2} , Yoshimoto RU ^{1,2} , Aijima R ³ , Ohsaki Y ^{1,2} , Honda Y ¹ , Uchino K ¹ , Nishida K ¹ , Tabaru A ¹ , Kido MA ^{1,2} (¹ Dept Anat and Physiol, Saga Med Sch, ² Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³ Dept Oral and Maxillofac Surg, Saga Med Sch)
P1-53	Analysis of negatively regulated odontoclast/osteoclast formation in dental pulp environment ○Nishida D ¹ , Arai A ² , Udagawa N ³ , Nakamura M ³ , Horibe K ⁴ , Kobayashi Y ⁵ , Takahashi N ⁵ , Mizoguchi T ¹ (¹ Tokyo Dent Coll, Oral Health Sci Cent, ² Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ, ³ Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ, ⁴ Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ, ⁵ Institute for Oral Sci, Matsumoto Dent Univ)
P1-54	The role of Rogdi during bone and enamel formation ○Mitsui SN, Yasue A, Tanaka E (Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci Dept Orthod Dentofac Orthop)
P1-55	The physiological role of p130Cas in salivary gland development and function ○Muroya R ¹ , Gao J ¹ , Nakatomi C ³ , Fujii S ¹ , Kiyoshima T ¹ , Jimi E ^{1,3,5} (¹ Kyushu Univ Grad Sch Dent Sect Mol Cell Biochem, ² Kyushu Univ Grad Sch Dent Sect Oral Maxillofac Surg, ³ Kyushu Dent Univ Div Mol Signal Biochem, ⁴ Kyushu Univ Grad Sch Dent Sect Oral Pathol, ⁵ OBT Res Cent Kyushu Univ Grad Sch)
P1-56	Improved structure of the mandibular bone and teeth on lethal hypophosphatasia in mice by high level expression of bone targeted alkaline phosphatase treatment ○Tanase T ¹ , Nakamura-Takahashi A ² , Shintani S ¹ , Kasahara M ² (¹ Dept Pediatr Dent, Tokyo Dent Coll, ² Dept Pharmacol Dent, Tokyo Dent Coll)
P1-57	CLEC-2 suppresses calcification in calvarial osteoblasts ○Takara K ¹ , Kajiwara K ² , Fujita T ² , Sakagami R ³ , Sawa Y ⁴ , Kojima H ¹ (¹ Div Dent Disabled Fukuoka Dent Coll, ² Div Orthodont Fukuoka Dent Coll, ³ Div Periodontol Fukuoka Dent Coll, ⁴ Dept Oral Funct Anat Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
P1-58	Analysis the characteristics of Epithelial rests of Malassez cloning cells ○Islam T, Minowa E, Noro D, Kurashige Y, Saitoh M (Div Pediatr Dent, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
P1-59	Mechanosensitive ion channels in bone development ○Nishida K ¹ , Gao WQ ¹ , Cao AL ^{1,2} , Tabaru A ¹ , Honda Y ¹ , Uchino K ¹ , Ohsaki Y ¹ , Kido MA ^{1,2} (¹ Dept Anat Physiol, Saga Med Sch, ² Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
P1-60	Novel method for caries prevention focusing on bacterial biofilm formation ○Arita-Morioka K, Nagao J, Narita Y, Yasumatsu K, Tasaki S, Cho T, Tanaka Y (Div Infect Biol, Fukuoka. Dent Coll)
P1-61	Therapeutic effect of hinokitiol on pneumococcal infection of mice ○Isono T ^{1,2} , Nagai K ¹ , Domon H ¹ , Maekawa T ^{1,3,4} , Hiyoshi T ^{1,4} , Noiri Y ² , Kunitomo E ⁵ , Terao Y ^{1,3} (¹ Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Div Cariol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ³ Res Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med & Dent Sci, ⁴ Div Periodontol, Niigata Univ Grad Sch Med & Dent Sci, ⁵ Central R&D Lab, Kobayashi Pharma.)
P1-62	Association of <i>Porphyromonas gingivalis</i> CRISPR type 30.1 with gene expression in the peri-implantitis microbiota ○Watanabe T ¹ , Shiba T ² , Nakano Y ¹ (¹ Dept Chem, Nihon Univ Sch Dent, ² Dept Periodontol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent)
P1-63	Identification of T cell antigens to induce Th17 cell in oral candidiasis. ○Tasaki S ^{1,2} , Cho T ¹ , Nagao J ¹ , Arita-Morioka K ¹ , Narita Y ¹ , Yasumatsu K ¹ , Kojima H ² , Tanaka Y ¹ (¹ Sec. Infect Biol, Dept Funct BioSci, Fukuoka Dent Coll, ² Sec Dent for the Disability, Dept Oral Growth and Deve, Fukuoka Dent Coll)
P1-64	Suppressive effect of <i>Candida albicans</i> pathogenic factor of S-PRG filler and possibility of clinical application ○Kono Y ^{1,2} , Tamura M ^{3,4} , Imai K ^{3,4} (¹ Div Oral Struct Funct Sci Nihon Univ Sch Dent Grad Sch Dent, ² Dept Oral Surg Nihon Univ Sch Dent, ³ Dept Microbiol Nihon Univ Sch Dent, ⁴ Div Immunol Pathobiol Res Cent Nihon Univ Sch)
P1-65	The effect of omega-3 fatty acid on inflammasome activity ○Kawano A ¹ , Ariyoshi W ¹ , Yoshioka Y ¹ , Yamasaki R ¹ , Okinaga T ² (¹ Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ, ² Dept Bacteriol, Osaka Dent Univ)

P1-66	Effects of pathogenic bacterial infections on the abnormal behavior of offspring ○Yasumatsu K ¹ , Nagao J ¹ , Arita (Morioka) K ¹ , Narita Y ¹ , Cho T ¹ , Kido H ² , Tanaka Y ¹ (¹ Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, ² Div Oral Implantol, Fukuoka Dent Coll)
P1-67	The roles of Akt and ERK signals in chondrogenic differentiation of ATDC5 cell line ○Okita K ^{1,2} , Ariyoshi W ² , Yoshioka Y ² , Yamasaki R ² , Kawano A ² , Hikiji H ¹ (¹ Sch Oral Health Sci, Kyushu Dent Univ, ² Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ)
P1-68	Identification and functional analysis of oral bacteria and its antimicrobials to prevent periodontal disease ○Ikemoto R ¹ , Nakamura M ¹ , Nagao J ² , Arita-Morioka K ² , Tanaka Y ² (¹ Undergraduate research student program, Fukuoka Dent Coll, ² Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll)
P1-69	Mechanistic insights into inhibitory activity of Matcha green tea on <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Takatsuka A ^{1,2} , Ikeda T ³ , Hirayama S ² , Senpuku H ² , Narisawa N ¹ , Nakao R ² (¹ Grad Sch Bioresour Sci, Nihon Univ, ² Dept Bacteriol 1, Natl Inst Infect Dis, ³ Pharm Sci, Sojo Univ)
P1-70	Effect of probiotics on periodontal disease ○Ryou N ¹ , Nagao J ² , Narita Y ² , Arita-Morioka K ² , Yasumatsu K ² , Tasaki S ² , Cho T ² , Tanaka Y ² (¹ Undergraduate research student program, Fukuoka Dent Coll, ² Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll)
P1-71	Analysis of virulence in nisin highly resistant MRSA ○Watanabe A ¹ , Kawada-Matsuo M ² , Komatsuzawa H ³ (¹ Dept Orthodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Dept Oral Microbiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ³ Dept Bacteriol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)
P1-72	Investigation of function of the DNA binding protein in <i>Treponema denticola</i> ○Kitamura Y ¹ , Kikuchi Y ² , Kokubu E ² , Saito A ¹ , Ishihara K ² (¹ Dept Periodontol, Tokyo Dent Coll, ² Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll)
P1-73	Effects of regulatory genes to virulence factors on GTF-dependent Membrane vesicles in <i>Streptococcus mutans</i> ○Nakamura T ^{1,2} , Iwabuchi Y ² , Narisawa N ¹ , Nakao R ² , Senpuku H ² (¹ Grad Sch Bioresour. Sci, Nihon Univ, ² Dept Bacteriol 1, Nat. Inst Infect. Des.)
P1-74	Cynaropicrin suppresses LPS-induced production of inflammatory cytokines and RANKL-induced osteoclast differentiation ○Watanabe N ^{1,2} , Yokoe S ^{1,2} , Sato S ¹ , Imai K ² (¹ Nihon Univ Sch Dent, Dept Periodontol, ² Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent)
P1-75	The mechanism of inflammasome activation induced by <i>Porphyromonas gingivalis</i> in TLR4-TRIF pathway-dependent manner ○Okano T, Suzuki T (Dept. Bact Pathogen, Infect Host Resp, TMDU Grad Sch Med Dent Sci)
P1-76	Profiling system of oral biofilm microbiota using PCR-RFLP method ○Sano H ¹ , Wakui A ¹ , Yamaki K ² , Washio J ² , Takahashi N ² , Sato T ¹ (¹ Div Clin Chem, Dept Med Technol, Niigata Univ Grad Sch Health Sci, ² Div Oral Ecol & Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
P1-77	Identification of HLA polymorphisms and their combination with KIR haplotype associated with diffuse sclerosing osteomyelitis ○Yahara H ¹ , Yoda T ² (¹ JSPS SPD, ² Dept Oral Maxillofac Surg, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent)
P1-78	Involvement of aging and estrogen signaling in the accumulation of senescence-associated T-lymphocytes in the salivary glands ○Kurosawa M, Furukawa M, Matsushita K, Shikama Y (Dept Oral Dis Res, NCGG)
P1-79	The humanized EBV-LPD recapitulate Human non GCB DLBCL ○Koike K ¹ , Imai I ² (¹ Dept Oral Maxillofac Surg, Nihon Univ, ² Dept Microbiol, Nihon Univ)
P1-80	Genome-wide analysis of gene expression profiling in HPDLFs treated by Artepillin C ○Takai R ¹ , Uehara O ² , Yoshida K ³ , Sato J ³ , Abiko Y ³ , Ohta T ¹ (¹ Res Inst of Health Sci, Health Sci Univ Hokkaido, ² Div Dis Control Mol Epidemiol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent, ³ Div Oral Med Pathol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent)
P1-81	Investigation of the character of metastasis promoting microenvironment in each high-metastatic organs ○Kawai H ¹ , Nobunaga H ¹ , May Wathone O ¹ , Yoshida S ¹ , Omori H ¹ , Takabatake K ¹ , Nakano K ¹ , Tsujigiwa H ² , Nagatsuka H ¹ (¹ Dept Oral Patho and Med, Okayama Univ Grad Sch Med, Dent and Pharma, ² Dept Life Sci, Fac Sci, Okayama Univ of Sci)
P1-82	Relationship between dacryoadenitis and lacrimal hyposecretion in male NOD mice ○Ohno Y, Satoh K, Kashimata M (Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent)
P1-83	Dyslipidemia model mice exhibit incisor dentin thickening and decreased bone mass ○Kurotaki Y ^{1,2,4} , Sakai N ^{2,4} , Sato Y ^{2,3,4} , Karakawa A ^{2,4} , Chatani M ^{2,4} , Koga T ^{2,4} , Takami M ^{2,4} (¹ Dept SND, Div Community-Based Comprehensive, Sch Dent, Showa Univ, ² Dept Pharm, Sch Dent, Showa Univ, ³ Dept Spec Needs Dent, Div Dent for Persons with Disabilities, Sch Dent, Showa Univ, ⁴ Pharm Res Cent, Showa Univ)
P1-84	Changes in oral tissue blood flow and oral tissue oxygen tension during remifentanyl infusion under sevoflurane or desflurane anesthesia ○Kobayashi A ¹ , Kasahara M ² , Ichinohe T ³ (¹ Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll Grad Sch Dent, ² Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll, ³ Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll)
P1-85	Propofol decreases spike firing frequency with an increase in spike synchronization in the cerebral cortex ○Kajiwara M ^{1,2} , Kobayashi M ² (¹ Nihon Univ Sch Dent Dept Anesthesiol, ² Nihon Univ Sch Dent Dept Pharmacol)
P1-86	Anti-canceractivity of novel ligands for the telomere structure ○Hikaru F ¹ , Higashi S ² , Ohsumi T ² , Takeuchi H ² (¹ Kyushu Dent Univ Div Oral Maxillofac Surg, ² Kyushu Dent Univ Div Appl Pharmacol)
P1-87	RANKL-binding peptide promotes bone formation by BMP-2 gene expressing non-viral vector ○Nagahiro S ¹ , Uehara T ¹ , Keo P ² , Kawai M ³ , Aoki K ⁴ (¹ Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, Dept Pediatr Dent, ² Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, Dept Orthodont Sci, ³ Osaka Dent Univ, Dept Pharmacol, ⁴ Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, Dept Basic Oral Health Eng)

P1-88	Application of oxytocin prevents ectopic pain induced by ligation of the infraorbital nerve ○Noma D ^{1,2} , Fujita S ² , Kobayashi M ² (Dept Orthodont, Nihon Univ Sch Dent, ² Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent)
P1-89	Physiologically stimulated Ca ²⁺ response and effects of phenytoin in human gingival fibroblasts ○Minowa E ¹ , Nezu A ² , Kurashige Y ¹ , Saitoh M ¹ , Tanimura A ² (Div Pediatr Dent, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ² Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
P1-90	Time-course study of bones induced by the co-injection of RANKL-binding peptide and BMP-2 and the effects of subsequent screw placement in murine maxilla ○Keo P ^{1,2} , Matsumoto Y ¹ , Nagahiro S ^{2,3} , Aoki K ² , Ono T ¹ (Tokyo Med Dent Univ, Grad Sch Med Dent Sci, Dept Orthodont Sci, ² Tokyo Med Dent Univ, Grad Sch Med Dent Sci, Dept Basic Oral Health Eng, ³ Tokyo Med Dent Univ, Grad Sch Med Dent Sci, Dept Pediatr Dent)
P1-91	Development of new gene therapy for normal mineralization in hypophosphatasia ○Takahashi A ¹ , Tanase T ² , Matsunaga S ³ , Abe S ³ , Shintani S ² , Kasahara M ¹ (Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll, ² Dept Pediatr Dent, Tokyo Dent Coll, ³ Dept Anat, Tokyo Dent Coll)
P1-92	Identification of salivary exosomes isolated by centrifugation with positive staining and transmission electron microscopy ○Yamamoto S ¹ , Shiba K ² , Hashimoto S ³ , Kasahara M ¹ (Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll, ² Div Protein Engin, Cancer Inst, ³ Div Biol, Tokyo Dent Coll)
P1-93	Spontaneous Ca ²⁺ responses of SF2 dental epithelial cells in the co-culture conditions with dental pulp stem cells ○Ishida N, Murata K, Tanimura A (Div Pharmacol Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
P1-94	Development of a novel fluorescent assay system with non-woven fabric of carboxylic acid-modified silica ○Jahan A, Ishida N, Tanimura A (Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ of Hokkaido)

(October 13, 16 : 40-17 : 30)

P2-01	Involvement of intracellular calcium on <i>Porphyromonas gingivalis</i> gingipains-induced COX-2 expression and PGE2 production ○Nakayama M ^{1,2} , Naito M ³ , Nakayama K ³ , Ohara N ^{1,2} (Dept Microbiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ² ARCOCS, Okayama Univ Dent Sch, ³ Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
P2-02	Identification of an Arg-Specific dipeptidase A from <i>Prevotella intermedia</i> : Revisiting substrate specificity of C69.001-Family ○Sarwar MT, Ohara-Nemoto Y, Ono T, Nemoto T (Dept Oral Mol Biol, Nagasaki Univ Course of Med and Dent Sci)
P2-03	Involvement of P2X ₇ receptor in chemokine production and cytotoxicity induced by the antimicrobial peptide LL-37 in human gingival fibroblasts ○Inomata M, Into T (Dept Oral Microbiol, Asahi Univ Sch Dent)
P2-04	Analysis of physiological roles of autophagy of <i>C. albicans</i> in host cell environment ○Horie T, Nasu M (Res Cent for Odontol, Sch Life Dent at Tokyo, The Nippon Dent Univ)
P2-05	Analysis of microbial flora of full-denture biofilm using next-generation sequencing and development of a model biofilm on full-dentures ○Hamada S ¹ , Tomioka T ¹ , Shibata K ² , Gomi M ¹ (Kobayashi Pharmaceut Co., Ltd. Central R&D Lab, ² Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
P2-06	Searching for novel inhibitors to a hydrogen sulfide-producing enzyme from <i>Fusobacterium nucleatum</i> ○Kezuka Y ¹ , Yoshida Y ² (Div Struct. Biol, Iwate Med Univ Sch Pharm, ² Dept Microbiol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent)
P2-07	Fluoride inhibits the growth and the metabolism of <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Domon H ¹ , Washio J ¹ , Abiko Y ¹ , Kawashima J ² , Takahashi N ¹ (Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ² Div Integrative Genomics, Tohoku Medical Megabank Organization, Tohoku Univ)
P2-08	Effect of continuous intake of tablets containing lactic acid bacteria on oral bacterial composition in periodontal treatment ○Nakano Y ¹ , Taniguchi N ² , Ota Y ³ , Hanioka T ² (Dept Chem, Nihon Univ Sch Dent, ² Dept Prev & Pub Health Dent, Fukuoka Dent Coll, ³ Ota Dent Clin)
P2-09	Exploration of effective inhibitors for drug efflux pump Cdr1p to avert fluconazole resistance in <i>Candida albicans</i> ○Fukui K ¹ , Hara H ¹ , Kuwashima H ¹ , Imai A ^{2,3} , Nakamura K ¹ (Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ at Niigata, ² Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, ³ Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ at Niigata)
P2-10	Inflammatory responses induced by <i>Porphyromonas gulae</i> LPS are mediated by TLR2 and TLR4 in human gingival epithelial cells ○Inaba H, Yoshida S, Nakano M (Dept Pediatr, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
P2-11	Construction of an OxyR deficient mutant of <i>Capnocytophaga ochracea</i> ○Kikuchi Y ^{1,2} , Shibayama K ² , Kokubu E ^{1,2} , Ishihara K ^{1,2} (Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll, ² Oral Health Sci Center, Tokyo Dent Coll)
P2-12	Proton-dependent dipeptide transporter in <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Ohara-Nemoto Y, Sarwar MT, Kobayakawa T, Nemoto TK (Dept Oral Mol Biol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
P2-13	Investigation of pathological mechanism of periodontal disease via host immune response ○Nagao J, Narita Y, Arita (Morioka) K, Yasumatsu K, Tasaki S, Cho T, Tanaka Y (Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll)
P2-14	Adhesion domain of <i>Porphyromonas gingivalis</i> Hgp44 to <i>Treponema denticola</i> ○Yoshikawa K ¹ , Kikuchi Y ² , Kokubu E ² , Kitamura Y ¹ , Saito A ¹ , Ishihara K ² (Dept Periodontol, Tokyo Dent Coll, ² Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll)

P2-15	DC-cluster formation in sublingual mucosa by sublingual immunization ○Kusumoto Y ¹ , Kataoka K ² (¹ Lab Immunol, Osaka Ohtani Univ Fac Pharm, ² Dept Prevent Community Dent, Osaka Dent Univ)
P2-16	A periodontopathic bacterial metabolite effects on exacerbation of ameloblastoma ○Ishikawa T, Shimoyama Y, Kodama Y, Sasaki M (Div Mol Microbiol Iwate Med Univ)
P2-17	Analysis of <i>Porphyromonas gingivalis</i> PGN_0296 Operon ○Ono S ¹ , Nakayama M ² , Shahriar A ² , Ohara N ² (¹ Dept PathoPhysiol-Perio Sci, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ² Dept Oral Microbiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
P2-18	The effect of sedation drugs on the immune response of T lymphocyte specific receptor-stimulated mouse splenocytes in vitro ○Kamiya M ¹ , Takayama E ² , Kawaki H ² , Umemura N ² , Ueno K ² , Matsunami A ³ , Andou M ² , Sumitomo S ³ , Chihara E ⁴ , Kondoh N ² (¹ Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin., ² Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, ³ Dept Oral & Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent, ⁴ Dept Anesthesiol, Asahi Univ Sch Dent)
P2-19	Effect of the occlusal stimuli on cellular potentiality in periodontal ligament cells ○Takahashi T, Ushijima N, Iizuka T (Support Sec Educ Res, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
P2-20	Immunohistochemical analysis of macrophage infiltration in the process of socket healing ○Horibe K, Hara M, Nakamura H (Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ)
P2-21	Localization of ICAM-1 and CD9 in developing junctional epithelium ○Fujikawa K, Kitamura M, Fukushima M, Nakamura M (Showa Univ Sch Dent)
P2-22	LRP1 contributes tissue repair in tooth socket by regulating osteoblast differentiation of periodontal ligament cells ○Ninomiya T ¹ , Nakamura Y ² , Nagashima T ³ , Ohashi A ¹ , Takahashi T ¹ (¹ Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent, ² Dept Orthod Dentofac Orthop, Nihon Univ Sch Dent, ³ Dept Oral Maxillofac Surg, Nihon Univ Sch Dent)
P2-23	Three-dimensional ultrastructural and histomorphological analysis of the periodontal ligament with occlusal hypofunction via FIB/SEM tomography ○Hirashima S ¹ (¹ Div Micro Dev, Dept Anat, Kurume Univ Sch Med, ² Dent Oral Med Cent, Kurume Univ Sch Med)
P2-24	Insulin-like growth factor-I stimulates the disintegration of Hertwig's epithelial root sheath and cellular cementogenesis in mouse molars in vitro ○Fujiwara N ¹ , Fujimura A ² (¹ Div Func Mor, Iwate Med Univ Sch Dent, ² Dept Oral Health Enhancem)
P2-25	Mechanical stress induces PDL related gene in human periodontal ligament fibroblast. ○Nattakarn H ¹ , Takada A, Kashio H, Mizoguchi I, Arakawa T (¹ Dept Biochem, Health Sci Univ Hokkaido., ² Dept Orthod, Health Sci Univ Hokkaido, ³ Dept Orthod, Tohoku Univ)
P2-26	Relationship between hardness variations and compositional changes in human premolars cementum ○Mishima H ¹ , Yamaguchi M ² , Chiba T ³ (¹ Dept Dent Eng, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Yoshimoto Orthod. Clin., ³ Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
P2-27	Diversity of dental hard tissues during the evolution of bony fish ○Sasagawa I ¹ , Oka S ² , Mikami M ³ , Yokosuka H ⁴ , Ishiyama M ⁴ (¹ Adv Res Cent, Nippon Dent Univ at Niigata, ² Dept Biol, Nippon Dent Univ at Niigata, ³ Dept Microbiol, Nippon Dent Univ at Niigata, ⁴ Dept Histol, Nippon Dent Univ at Niigata)
P2-28	Schwann cells modulate the macrophage phenotype toward M2 in human dental pulp ○Yoshida N ¹ , Ohkura N ¹ , Maekawa T ² , Izumi K ³ , Hosoya A ⁵ , Nakamura H ⁷ , Maeda T ⁴ , Noiri Y ¹ , Yoshida K ⁵ (¹ Div Cariol Oper Dent Endod, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Res Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ³ Div Biomimetics, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁴ Div Dent Edu Res Dev, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁵ Div Oral Sci Health Prom, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁶ Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ⁷ Dept Oral Histol, Matsumoto Dent Univ)
P2-29	Expression and localization of vesicle-releasing marker proteins in developmental stages of mouse odontoblast cells ○Matsuki-Fukushima M, Fujikawa K, Inoue T, Nakamura M (Dept Oral Anat, Showa Univ Sch Dent)
P2-30	Histological study of oxytalan fibers in the lower jaw of <i>Lophius litulon</i> ○Yuguchi M ^{1,2} , Yamazaki Y ^{1,2} , Kanazawa H ¹ , Isokawa K ^{1,2} (¹ Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent, ² Div Funct Morphol, Dent Res Cent, Nihon Univ Sch Dent)
P2-31	Investigation of distribution detection methods of advanced glycation end products (AGEs) accumulated in the dentine by glycation stress ○Shimizu M, Miura J, Sugiyama K, Takashima A (Div Interdisci Dent Osaka Univ Grad Sch Dent)
P2-32	Bisphosphonate promotes the mitophagy of osteoblastic cells by damaging the mitochondrial function ○Tajima M (Div Pharmacol, Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent)
P2-33	Evaluation of selective toxicity of cetuximab against human oral squamous cell carcinoma cell lines and keratinocytes ○Iijima Y ¹ , Bandow K ² , Tomomura A ² , Yamada M ¹ , Hino S ¹ , Kaneko T ¹ , Horie N ¹ , Sakagami H ³ (¹ Dept Oral Maxillofac Surg, SMC, Saitama Med Univ, ² Dept Oral Biol Tissue Engin, Meikai Univ Sch Dent, ³ Mekai Univ Res Inst Odontol (M-RIO))
P2-34	Effect of Episil for experimental stomatitis in mouse ○Yamada M ¹ , Iijima Y ¹ , Hino S ¹ , Kaneko T ¹ , Sakagami H ² , Horie N ¹ (¹ Dept Oral and Maxillofac Surg, SMC, Saitama Med Univ, ² Mekai Univ Res Inst Odontol (M-RIO))
P2-35	Analysis of the expression frequency of human salivary proline-rich protein P-B and its variant Q504X8 in the population ○Saitoh E ¹ , Imai A ² , Kato T ³ (¹ Grad Sch Technol, Niigata Inst of Technol, ² Dept Dent Hygiene, The Nippon Dent Univ Coll at Niigata, ³ Lab of Chem, Tokyo Dent Coll)
P2-36	Influence of propofol on salivary secretion ○Furuyama A, Ohsuga K, Kawaai H (Dept Oral Func Mol Biol, Ohu Univ Sch Dent)

P2-37	Transcriptional regulatory region of the histatin gene in malignant melanoma cells ○Imamura Y ¹ , Wang PL ² , Sogawa N ¹ (¹ Dept Dent Pharmacol, Matsumoto Dent Univ, ² Dept Innov Dent Educ, Osaka Dent Univ)
P2-38	Comparison of expression of S100 proteins in parotid glands of NOD and normal ○Sato R ^{1,2} , Nashida T ² , Mizuhashi F ³ , Shimomura-Kuroki J ⁴ , Morita T ² (¹ Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ Col at Niigata, ² Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, ³ Dept Remov Prosthodont, Nippon Dent Univ at Niigata, ⁴ Dept Pediatr Dent, Nippon Dent Univ at Niigata)
P2-39	The difference of changes of gene expressions induced by stimulation with pilocarpine and cevimeline ○Morita T ¹ , Nezu A ² , Sato R ^{1,3} , Nashida T ¹ , Tanimura A ² (¹ Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, ² Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent, ³ Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ Col at Niigata)
P2-40	Mechanism of acetylcholine-induced tissue-wide synchronization of Ca ²⁺ oscillations in rat submandibular gland ○Nezu A ¹ , Morita T ² , Ishii H ³ , Tanimura A ¹ (¹ Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent, ² Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, ³ Div Physiol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent)
P2-41	Role of microphthalmia-associated transcription factor on fibrosis and apoptosis in masseter muscle ○Nariyama M ¹ , Ohnuki Y ² , Suita K ² , Umeki D ³ , Ito A ³ , Yagisawa Y ³ , Ishikawa M ⁴ , Asada Y ¹ , Okumura S ² (¹ Dept Pediatr. Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³ Dept Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁴ Dept Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
P2-42	Electrophysiological evidence of involvement of different ion channels at the larynx and associated laryngopharyngeal regions in the swallowing reflex ○Hossain MZ ¹ , Ando H ² , Unno S ¹ , Masuda Y ³ , Kitagawa J ¹ (¹ Dept Oral Physiol, Matsumoto Dent Univ, ² Dept Biol, Matsumoto Dent Univ, ³ Dept Oral Physiol, Matsumoto Dent Univ, ⁴ Inst for Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, ⁵ Dept Oral Physiol, Matsumoto Dent Univ)
P2-43	Expression of TRP, ASIC and Piezo channels in the superior laryngeal nerve innervating the larynx and associated laryngopharyngeal regions ○Ando H ¹ , Hossain MZ ² , Unno S ² , Masuda Y ³ , Kitagawa J ² (¹ Dept Biol Sch Dent Matsumoto Dent Univ, ² Dept Oral Physiol Sch Dent Matsumoto Dent Univ, ³ Dept Oral Maxillofac Biol Grad Sch Oral Med Matsumoto Dent Univ)
P2-44	Gross anatomy and microanatomical study on location and morphology of human sublingual ganglia ○Takahashi M, Sakakura Y (Div Anat, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
P2-45	Role of nicotinic acetylcholine receptors in synaptic potentiation in the mouse insular cortex ○Toyoda H, Sato H, Kato T (Dept Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
P2-46	How long time are needed for the rats to recognize the components of the mixed taste solution? ○Yamamura T, Yasuo T, Suwabe T, Sako N (Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent)
P2-47	Vitamin C deficiency-induced anorexia and appetite for vitamin C ○Yasuo T, Suwabe T, Yamamura T (Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent)
P2-48	Psychological stress induced by the repeated force swim stress modulates response properties in the rostral ventromedial medulla ○Kurose M ¹ , Hasegawa M ² , Satoh Y ³ , Fujii N ² , Yamamura K ¹ , Okamoto K ¹ (¹ Div Oral Physio, Niigata Univ Grad Sch Med Dent, ² Unit Dent Educ, Niigata Univ Hosp, ³ Dept Physiol, Nippon Dent Univ at Niigata)
P2-49	Effects of postnatal intermittent hypoxia on development of oral functions in rats ○Shimoda M ^{1,2} , Toyoda H ¹ , Katagiri A ¹ , Sato H ¹ , Akiyama S ² , Kato T ¹ (¹ Dept Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, ² Div Spec. Needs Dent, Osaka Univ Dent Hosp.)
P2-50	Renin-angiotensin system and angiotensin II receptors in orofacial sensory ganglia of rats ○Suwabe T, Yasuo T, Sako N (Dept Oral Physiol, Div Oral Funct Sci Rehabil, Asahi Univ Sch Dent)
P2-51	Palatal mucosal wound healing after administration of an antibacterial drug in type 2 diabetes model rats ○Uemura M, Orihara H, Sumi Y, Moriue K, Kawashima W, Toda I (Dept Anat, Osaka Dent Univ)
P2-52	Antitumor activity of interferon-inducible chemokines in a mouse tumor model ○Mori K ¹ , Hiroi M ² , Matsumoto A ¹ , Shimada J ¹ , Ohmori Y ² (¹ Div Oral Maxillofac Surg, Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent, ² Div Microbiol and Immunol, Dept Oral Biol Tissue Eng Meikai Univ Sch Dent)
P2-53	Immunosuppressive effect of mono nuclear cell, MLC-6, was specifically enhanced by humoral factor (s) from mouse oral squamous cell carcinoma, Sq1979 cells ○Andou M ¹ , Kamiya M ² , Matsunami A ³ , Takayama E ¹ , Kawaki H ¹ , Umemura N ¹ , Ueno K ¹ , Muramatsu Y ³ , Sumitomo S ³ , Kondoh N ¹ (¹ Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, ² Dept Chem, Asahi Univ Sch Business, ³ Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent)
P2-54	Intracellular metabolism of tumor-infiltrating macrophages promote glycolytic system with tumor growth ○Umemura N, Ueno K, Kawaki H, Takayama E, Kondoh N (Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch dent)
P2-55	Effect of acetaldehyde on oral epithelial cells ○Miyazaki Y ¹ , Hoshino M ² , Kaneda T ³ , Nishimura M ² , Kikuchi K ² , Kusama K ² (¹ Div Basic Biol, Meikai Univ Sch Dent, ² Div Pathol, Meikai Univ Sch Dent, ³ Div Oral Surg, Meikai Univ Sch Dent)
P2-56	Acidic extracellular pH and acquisition of metastatic phenotype of cancer ○Sutoo S, Maeda T, Suzuki A, Kato Y (Dept Oral Funct Mol Biol, Ohu Univ Sch Dent)
P2-57	A ₃ adenosine receptor agonist attenuates neuropathic pain by suppressing activation of microglia and convergence of nociceptive inputs in the spinal dorsal horn ○Terayama R (Dept Maxillofac Anat Neurosci, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)

P2-58	LDL uptake-dependent translocation of phosphatidylethanolamine into outer leaflet of plasma membrane is involved in the cell-cell fusion of osteoclastic cells ○Hakeda Y ¹ , Kitano Flores VJ ^{1,2} , Uchida Y ^{1,2} , Hayashida C ¹ , Sato T ¹ , Shimada J ² (¹ Div Oral Anat, Meikai Univ Sch of Dent, ² Div Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch of Dent)
P2-59	Comparison of bone fracture repair process between metaphysis and diaphysis in ovariectomized mice ○Inoue S, Fujikawa K, Fukushima M, Nakamura M (Dept Oral Anat Dev Biol, Showa Univ Sch Dent)
P2-60	Effect of β -cyclodextrin phosphate on the resorption ability of osteoclasts ○Yoshikawa Y ¹ , Tsuda S ² , Domae E ¹ , Kamada A ¹ , Ikeo T ¹ (¹ Dept Biochem, Osaka Dent Univ, ² Dept Chem, Osaka Dent Univ)
P2-61	The relationship between osteoblasts and hematopoiesis in two different ossification ○Mayahara M, Fujikawa K, Nakamura M (Dept Oral Anat Dev Biol, Showa Univ Sch Dent)
P2-62	On the disappearance style at the anterior half of mouse Meckel's cartilage ○Inoue K, Yawaka Y (Dept Dent Child Disabled Person Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
P2-63	Analysis of morphological and functional abnormality in Jansen type PTH/PTHrP receptor-transgenic mice ○Shimomura-Kuroki J ¹ , Nashida T ² , Morita T ² , Ohshima H ³ , Amizuka N ⁴ (¹ Dept Pediatr Dent, Nippon Dent Univ at Niigata, ² Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, ³ Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁴ Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
P2-64	Three-dimensional reconstruction of Golgi apparatus of osteoclasts with the use of enzyme cytochemistry and serial semi-thin sections ○Yamamoto T, Hasegawa T, Hongo H, Amizuka N (Dept Deve Biol Hard Tissue Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
P2-65	The effects of chemical chaperone on ER stress on tooth development and regeneration ○Lee E-S ¹ , Adhikari N ¹ , Aryal Y P ¹ , Kim T-Y ¹ , Yeon C-Y ¹ , Yamamoto H ² , An C-H ¹ , Jung J-K ¹ , Ha J-H ¹ , Kim J-Y ¹ (¹ Sch Dent, IHBR, Kyungpook Natl Univ, ² Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll)
P2-66	Developmental roles of FUSE Binding Protein 1 in tooth development ○Aryal Y P ¹ , Adhikari N ¹ , An C-H ¹ , An S-Y ¹ , Ha J-H ¹ , Jung J-K ¹ , Yamamoto H ² , Lee Y ¹ , Sohn W-J ³ , Kim J-Y ¹ (¹ Sch Dent, IHBR, Kyungpook Natl Univ, ² Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll)

(October 14, 14 : 50-15 : 40)

P3-01	The novel antibacterial photodynamic therapy applying the internal pigment of <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Yoshida A, Sasaki H, Izukuri K, Toyama T, Hamada N, Yoshino F (Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
P3-02	PGN_0297, porG, an essential component of the type IX secretion system in <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Naito M, Shoji M, Nakayama K (Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
P3-03	Effect of TLR4 inhibitors on <i>Porphyromonas gingivalis</i> LPS-induced diabetic nephropathy ○Kajiwara K ¹ , Takara K ² , Fujita T ¹ , Sakagami R ³ , Kojima H ² , Sawa Y ⁴ (¹ Div Orthodont, Fukuoka Dent Coll, ² Div Dent Disabled Fukuoka Dent Coll, ³ Div Periodontol, Fukuoka Dent Coll, ⁴ Dept Oral Funct Anat, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
P3-04	Involvement of <i>Fusobacterium nucleatum</i> bone resorption and periodontal tissue inflammation ○Ogawa Y, Kobayashi R, Kono T, Okada H, Ochiai T, Komiya M (Dept Oral Surg, Nihon Univ Sch Dent Matsudo)
P3-05	Irradiation of purple LED modulates a multispecies oral bacterial community ○Nambu T ¹ , Mashimo C ¹ , Maruyama H ¹ , Yoshikawa K ² , Yamamoto K ² , Okinaga T ¹ (¹ Dept Bacteriol, Osaka Dent Univ, ² Dept Oper Dent, Osaka Dent Univ)
P3-06	Identification of T-cell epitope of periodontal bacteria inducing periodontitis in mice ○Narita Y, Nagao J, Arita-Morioka K, Tasaki S, Yasumatsu K, Cho T, Tanaka Y (Div Infect Biol, Dept Funct Biosci, Fukuoka Dent Coll)
P3-07	Comparison of CRISPR sequences among five <i>Mycoplasma salivarium</i> strains ○Shimoyama Y ¹ , Ishikawa T ¹ , Kodama Y ¹ , Kimura S ² , Sasaki M ¹ (¹ Div Mol Microbiol, Iwate Med Univ, ² Dept Dent Hygiene, Kansai Women's Coll)
P3-08	Identification of initial colonizing bacteria in dental plaques from young adults using full-length 16S rRNA gene sequencing ○Takeshita T ^{1,2} , Kageyama S ¹ , Asakawa M ¹ , Shibata Y ¹ , Yamashita Y ¹ (¹ Sect Prev Public Health Dent, Kyushu Univ Grad Sch of Dent, ² OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
P3-09	Bactericidal effect of fatty acid salts on cariogenic and periodontopathic bacteria ○Kurahashi Y, Watanabe K, Sato T, Sasaki H, Hamada N (Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
P3-10	Distribution of <i>Staphylococcus aureus</i> from the mucous membrane of nose in healthy students. ○Kuwahara N, Saito M, Takizawa T, Kobayashi R, Ochiai T (Dept Microbiol, Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
P3-11	Relationship between hemolytic <i>Gemera</i> and <i>P. gingivalis</i> in the oral cavity ○Miyoshi T ¹ , Yoshinari N ² , Yoshida A ¹ (¹ Dept Oral Microbio, Matsumoto Dent Univ, ² Dept Perio, Matsumoto Dent Univ)
P3-12	Effect of oral moisturizing gel with chlorhexidine, propolis, curry leaf, or turmeric in patients following head and neck radiotherapy ○Nakao R ¹ , Hirayama S ¹ , Senpuku H ¹ , Ueno T ² (¹ Dept Bacteriol I, Natl Inst Infect Dis, ² Dept Dent, Natl Cancer Res Cent Hosp)
P3-13	<i>Streptococcus pneumoniae</i> limits host mortality through species-specific protein PfbA ○Yamaguchi M ¹ , Hirose Y ¹ , Takemura M ¹ , Ono M ¹ , Sumitomo T ¹ , Nakata M ¹ , Terao Y ² , Kawabata S ¹ (¹ Dept Oral & Mol Microbiol, Osaka Univ, Grad Sch Dent, ² Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)

P3-14	Production of group A streptococcal pili reliant on translational efficiency of thermosensitive regulator ○Nakata M, Sumitomo T, Kawabata S (Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
P3-15	Histological study on periodontal tissue regeneration after Platelet-rich fibrin (PRF) treatment ○Liu Y, Tou M, Matsuo M (Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
P3-16	Effect of S-PRG filler eluate on MMP-1 and MMP-3 secretion in TNF- α stimulated human gingival fibroblasts ○Inoue H, Goda S (Dept Physiol, Osaka Dent Univ)
P3-17	<i>Porphyromonas gingivalis</i> infection modifies oral microcirculation function in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHRSP) ○Wada-Takahashi S ¹ , Yoshino F ¹ , Yoshida A ¹ , Maehata Y ¹ , Toyama T ¹ , Sato T ¹ , Hamada N ¹ , Lee MC ² , Takahashi SS ¹ (Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ² Yokosuka · Shonan · Disaster Health Emerg Res Cent)
P3-18	Stretch-activated ionic channels in rat trigeminal ganglion neurons ○Higashikawa A, Kimura M, Toda H, Shimada M, Ofusa W, Ohyama S, Kono K, Mochizuki H, Shibukawa Y (Dept Physiol, Tokyo Dent Coll)
P3-19	In vivo study underlying the generation mechanism of dentinal pain ○Ohyama O ¹ , Hitomi S ² , Higashikawa A ¹ , Ofusa W ¹ , Toda H ¹ , Kuroda H ³ , Kimura M ¹ , Ono K ² , Sibukawa Y ¹ (Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, ² Div Physiol, Dept Health Promotion, Kyushu Dent Univ, ³ Dept Critical Care Med and Dent, Div Anesthesiol, Kanagawa Dent Univ)
P3-20	Analysis of cellular senescence in gingival fibroblasts and in gingiva from aged mice ○Furukawa M ¹ , Matsuda K ² , Kurosawa M ¹ , Aoki Y ² , Shikama Y ¹ , Matsushita K ¹ (Dept Oral Disease Res, National Center for Geriatrics and Gerontol, ² Biological & Analytical Res G, R&D, Daiichi Sankyo Healthcare Co., Ltd.)
P3-21	Observations of mandibular incisor root canal shape using cone beam computed tomography ○Usami A, Serikawa M (Dept Oral Anat, Ohu Univ Sch of Dent)
P3-22	Histological changes in periodontal tissue caused by tooth movement after oral administration of eggshell membrane and vitamin C ○Motoji H, To M, Hidaka K, Matsuo M (Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent Dept Oral Interdiscipl Med Dept Oral Sci)
P3-23	Development of alveolar crest in rats: development of fibrous interfaces differs between alveolar bone proper and cortical bone ○Kawano Y, Sugiyama A, Takigawa T (Dept Oral Anat, Asahi Univ)
P3-24	Decreased in vitro degradation of atelocollagen/gelatin sponge by heat treatment ○Yang L ¹ , Miura T ² , Kasahara M ¹ (Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll, ² Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll)
P3-25	Observation of dental root apices on irradiated mice by various fluorescent-labeling method ○Ide Y ¹ , Fukada T ² , Nasu M ³ , Nakahara T ¹ (Dept Dev & Reg Dent, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ² Dept Pharm, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ³ Res Cent for Odont, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
P3-26	Interaction between hypoxia and intracellular signaling in maintaining dental epithelial and pulp stem cells ○Otsu K ¹ , Ikezaki S ¹ , Ohshima H ² , Harada H ¹ (Div Dev Bio Reg Med Iwate Med Univ Sch Dent, ² Div Anat Cell Biol Hard Tissue Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)
P3-27	Analysis of gene and protein expression in dental pulp stem cells isolated from a patient diagnosed as Crouzon syndrome ○Torii D ¹ , Kobayashi T ^{2,3} , Horie T ² , Tsutsui TW ¹ (Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ² Res Cent Odont, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ³ Dept Periodontol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)
P3-28	Shh-Ptch-Gli signaling pathway in maintaining dental epithelial and pulp stem cells and odontoblasts ○Ishikawa Y ¹ , Ida-Yonemochi H ² , Saito K ² , Nakatomi M ³ , Ohshima H ² (Dep Dent Hygiene, Health Care Sci, Chiba Pref Univ Health Sci, ² Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ³ Div Anat, Kyushu Dent Univ)
P3-29	Regulation of gene expression of maturation-stage enamel proteins by TGF- β Isoforms ○Miyakawa Y ¹ , Karakida T ² , Kobayashi S ¹ , Yamakoshi Y ² , Asada Y ¹ (Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
P3-30	Morphological study of human facial fascia and subcutaneous tissue structure by region through SEM observation ○Amano K, Hidaka K, Yamamoto R, Matsuo M (Dept Oral Sci, Kanagawa Univ Grad Sch Dent)
P3-31	Histological observation of age-related changes in the epiglottis that contribute to loss of swallowing function in older adults ○Serikawa M, Usami A (Ohu Univ Sch Dent, Div Oral Anat)
P3-32	Branches of fauces and anastomoses with hypoglossal nerve of the lingual nerve ○Shimotakahara R, Mine K, Tamatsu Y (Dept Gross Anat & Forensic Dent, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent)
P3-33	Impact of bone morphology on muscle ○Yamamoto M ¹ , Ishizuka S ¹ , Naito T ¹ , Hashimoto C ¹ , Kitamura K ² , Abe S ¹ (Dept Anat, Tokyo Dent Coll, ² Dept Anat, Tokyo Dent Coll, ³ Dept Hist Dev Biol Tokyo Dent Coll)
P3-34	Macrophage infiltration into thyroid follicles: an immunohistochemical study using donated elderly cadavers ○Naitou T, Yamamoto M, Abe S (Dept Anat, Tokyo Dent Coll)
P3-35	Distribution and function of alpha-synuclein in the rat cervical immune system ○Sato T ¹ , Yajima T ¹ , Shimazaki K ¹ , Nishitani T ^{1,2} , Hoshika T ² , Nishitani Y ² , Ichikawa H ¹ (Div Oral and Craniofacial Anat, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ² Dept Restor Dent Endodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
P3-36	Influence of pathological changes of the temporomandibular joint on surrounding tissues ○Ishizuka S ^{1,3} , Yotsuya M ^{2,3} , Yamamoto M ^{1,3} , Abe S ^{1,3} (Dept Anat, Tokyo Dent Coll, ² Dept Fixed Prosthodont, Tokyo Dent Coll, ³ Tokyo Dent Coll, Research Branding Project)

P3-37	Morphologic analysis in regenerating jaw of adult newt ○Kawamoto S, Taya Y, Sato K, Soeno Y (Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
P3-38	Interaction of hypoglossal neuroaxis with tongue myogenic cells in mouse craniofacial development ○Taya Y ¹ , Sasaki Y ² , Horie T ³ , Sato K ¹ , Soeno Y ¹ (¹ Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ² Dept Dent, Kanagawa Child Med Cent, Yokohama, ³ Res Cent Odontol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
P3-39	The role of high mobility group box 1 (HMGB1) in myofibers ○Sakiyama K ¹ , Ogasawara Y ^{1,2} , Onozawa G ^{1,3} , Nagasaka A ¹ , Bando Y ¹ , Amano O ¹ (¹ Div Anat, Meikai Univ Sch of Dent, ² Div Second Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch of Dent, ³ Div First Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch of Dent)
P3-40	Mechanosensitive ion channels in mouse palatal fusion ○Honda Y, Tabaru A, Ohsaki Y, Cao AL, Gao WQ, Nishida K, Uchino K, Yoshimoto R, Kido M (Dept Anat and Physiol, Saga Med Sch)
P3-41	Effects of appetite-boosting peptides on the superior salivatory nucleus neurons innervating the salivary glands in rats ○Mitoth Y ¹ , Sato T ² , Fujita M ¹ , Kobashi M ¹ , Ichikawa H ² , Yoshida R ¹ (¹ Dept Oral Physiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ² Div Oral Craniofac Anat Tohoku Univ Grad Sch Dent)
P3-42	Salivary IgA flow rate is associated with short-chain fatty acid absorption from the cecum in rats ○Yamamoto Y ¹ , Saruta J ² , To M ² , Sakaguchi W ² , Tsukinoki K ² (¹ Dept Junior Coll, Kanagawa Dent Univ Sch Dent Hygiene, ² Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
P3-43	Effect of extracellular glucose concentration on carbachol-induced fluid secretion from submandibular glands ○Sugita M, Kitagawa M (Dept Physiol Oral Physiol, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci)
P3-44	Difference between somatosensory and gustatory input on hemodynamics in rat three major salivary glands ○Sato T, Ramadhani R, Mito K, Ishii H (Div Physiol, Dept Oral Biol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)
P3-45	Cdc42 controls secretory granules morphology in rodent salivary glands <i>in vivo</i> ○Shitara A, Kashimata M (Dept Pharma, Asahi Univ Sch Dent)
P3-46	Myod1 activates expression of mouse T1R1 amino acid receptor gene (<i>Tas1r1</i>) in C2C12 myoblast cells ○Toyono T ¹ , Matsuyama K ¹ , Kataoka S ¹ , Nakatomi M ¹ , Hosokawa R ² , Seta Y ¹ (¹ Div Anat, Dept Health Improv, Kyushu Dent Univ, ² Div Oral Reconstruct Rehabil, Kyushu Dent Univ)
P3-47	ATP-induced local and global Ca ²⁺ responses in rat glioma C6 cells ○Goh K ¹ , Nezu A ² , Terumitsu M ¹ , Tanimura A ² (¹ Div Dent Anesthesiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ² Div Dent Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
P3-48	Molecular regulatory mechanism of Tumor Susceptibility Gene 101 (TSG101) in stretched podocytes ○Sunohara M, Asada N, Miwa Y (Dept Anat, Sch Life Dent at Tokyo, The Nippon Dent Univ, Tokyo)
P3-49	The effects of SSRIs on masseter muscle activities in mice ○Mochizuki A ¹ , Ikeda M ² , Nakamura S ¹ , Nakayama K ¹ , Dantsuji M ¹ , Kato T ³ , Baba K ² , Inoue T ¹ (¹ Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent, ² Dept Prosthodont, Showa Univ Sch Dent, ³ Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
P3-50	Paclitaxel alters sour-taste sensitivity in rats ○Fujiyama R (Dept Clin Educ Gen Dent, Nagasaki Univ Sch Dent)
P3-51	Cortico-cortical projection to the primary somatosensory cortex working for trigeminal sensory processing ○Furuta T, Yoshida A (Dept Oral Anat and Neurobiol, Grad Sch Dent, Osaka Univ)
P3-52	Inhibitory factors on the water-induced swallowing reflex in the rat pharynx ○Ujihara I, Hitomi S, Ono K (Div Physiol, Kyushu Dent Univ)
P3-53	Development of a new method to evaluate oral viscosity perception using rats ○Miyamura Y ¹ , Hitomi S ¹ , Ujihara I ¹ , Ono K ¹ (¹ Div Physiol, Kyushu Dent Univ Grad Sch Dent, ² Div Dent Radiol, Kyushu Dent Univ Grad Sch Dent)
P3-54	Local connections of excitatory neurons to parvalbumin-containing interneurons in motor-associated cortical areas of mice ○Kuramoto E, Iwai H, Yamanaka A, Goto T (Dept Oral Anat Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
P3-55	The effect of flecainide on taste bud organoid growth and behavioral taste response in mice ○Kawabata Y ¹ , Takai S ¹ , Yoshida R ² , Sanematsu K ^{1,3} , Shigemura N ¹ (¹ Dept Oral Neurosci, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² Dept Oral Physiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ³ R&D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ)
P3-56	Age-related changes in hemodynamics in the masseter muscle via a trigeminal nerve-mediated autonomic reflex ○Mito K, Sato T, Ramadhani R, Ishii H (Div Physiol, Dept Oral Biol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)
P3-57	The effect of Adrenomedullin on chorda tympani nerve responses to sugars via Trs-independent pathway in mice ○Iwata S ^{1,2} , Inoue M ³ , Yoshida R ⁴ , Ninomiya Y ^{2,5} (¹ Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, ² Div Sensory Physiol medical application sensing, R&D Cent for Five-Sense Device, Kyushu Univ, ³ OBT Res Cent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, ⁴ Dept Oral Physiol, Grad Sch Med, Dent, and Pharm Sci, Okayama Univ, ⁵ Monell Chem Senses Cent)
P3-58	Antitumor activity of T cells and NK cells in 4-nitroquinoline 1-oxide-induced mouse tongue carcinogenesis ○Yamaguchi H ¹ , Mori K ² , Hiroi M ¹ , Matsumoto A ² , Shimada J ² , Ohmori Y ¹ (¹ Div Microbiol, Dept Oral Biol, Meikai Univ Sch Dent, ² Div Oral Maxillofac Surgl, Dept Diag Therap Sci, Meikai Univ Sch Dent)
P3-59	Comparative pathological analysis of atypical epithelium in tongue mucosal lesions ○Sato K ¹ , Kudo T ^{1,2} , Taya Y ¹ , Soeno Y ¹ (¹ Dept Pathol, Nippon Dent Univ, ² PATHO LABO)

P3-60	ALOXs control lipid peroxidation and H ₂ O ₂ intake in ρ^0 cells ○Tomita K ¹ , Takashi Y ^{1,2} , Igarashi K ¹ , Nishitani Y ² , Sato T ¹ (¹ Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Dept Restor Dent Endodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
P3-61	Hypoxia induced HIF-1 α and ZEB1 are critical for the malignant transformation of ameloblastoma ○Yoshimoto S ¹ , Morita H ² , Hashimoto S ¹ (¹ Sect Pathol, Fukuoka Dent Coll, ² Dept Gen Dent, Fukuoka Dent Coll)
P3-62	Hif-1 α expression is essential for BMP9-mediated osteoblast differentiation through the induction of a glycolytic enzyme, PDK1 ○Matsuguchi T ¹ , Chiba N ¹ , Seong C ² , Ohnishi T ¹ (¹ Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Dept Oral Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
P3-63	Reparative effect of low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) on injured meniscus – Involvement of CCN2/CTGF ○Aoyama E ¹ , Nishida T ^{1,2} , Kubota S ² , Takigawa M ¹ (¹ ARCOCS Okayama Univ Dent Sch Grad Sch Med Dent Pharm, ² Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm)
P3-64	Expression of mechanosensitive ion channel in osteoblasts ○Nagai S ^{1,2} , Toda H ¹ , Ooyama S ¹ , Oofusa W ¹ , Higashikawa A ¹ , Kimura M ¹ , Shibukawa Y ¹ , Katakura A ² (¹ Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, ² Dept Oral Pathobiological Sci Surg, Tokyo Dent Coll)
P3-65	Expression of Notch signaling and thyroid hormone in lower jaw of the newt ○Miwa Y, Asada N, Sunohara M (Dept Anat, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
P3-66	The expression profile of noncoding RNA in osteoblast derived from cleidocranial dysplasia iPSC ○Onodera S ¹ , Ooki A ² , Saito A ¹ , Ogura H ² , Nakamura T ¹ , Nishii Y ² , Sueishi K ² , Azuma T ¹ (¹ Dept Biochem Tokyo Dent Coll, ² Dept Orthodont Tokyo Dent Coll)
P3-67	Egr-1 plays an important role in BMP-9-induced osteoblast differentiation ○Chiba N, Ohnishi T, Matsuguchi T (Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
P3-68	Apigenin modulates inflammation and signaling regulation for reparative dentin formation in exposed pulp ○Yeon C-Y ¹ , Adhikari N ¹ , Aryal Y P ¹ , Lee E-S ¹ , An C-H ¹ , Yamamoto H ² , Jung J-K ¹ , Jeong G-S ³ , Ha J-H ¹ , Kim J-Y ¹ (¹ Sch Dent, IHBR, Kyungpook Natl Univ, ² Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll, ³ Div Pharmacognosy, Keimyung Univ)
P3-69	Facilitation of bone healing capacity through modulation of Meox2 expression ○Kim T-Y ¹ , Adhikari N ¹ , Lee Y ¹ , Jung J-K ¹ , An C-H ¹ , Sohn W-J ² , Yamamoto H ³ , Jang I-H ⁴ , An S-Y ¹ , Kim J-Y ¹ (¹ Sch Dent, IHBR, Kyungpook Natl Univ, ² Pre Major of Cosmetics and Pharmaceut, Daegu Haany Univ, ³ Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll)

(October 12, 17 : 50-18 : 40)

PS1-01	Biofilm formation on the surface of gutta-percha endodontic point (GPEP) using a flow system ○Ikezawa E ¹ , Furukawa Y ¹ , Tanaka Y ¹ , Kasuragi H ² (¹ Nippon Dent Univ, Sch Life Dent at Niigata, ² Dept Microbiol, Sch Life Dent at Niigata, Nippon Dent Univ)
PS1-02	Investigation of the antimicrobial activity of a natural product of bilberry fruit against oral microorganisms ○Sato Y ¹ , Ishihara K ² (¹ Fac Dent, Tokyo Dent Coll, ² Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll)
PS1-03	Exploring the probiotic bacterial metabolites that suppress a representative periodontal pathogen of genus <i>Porphyromonas</i> ○Shirai D, Sakai Y, Kawai T, Maeda N, Ohshima T (Tsurumi Univ Sch Dent Med, Dept Oral Microbiol)
PS1-04	Transcriptomic profiling of <i>Streptococcus pyogenes</i> at the infection site of mouse necrotizing fasciitis model ○Hanada T, Hirose Y, Yamaguchi M, Sumitomo T, Nakata M, Kawabata S (Dept Oral Mol Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
PS1-05	An antibiotic tolerance related gene in biofilm cells of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ○Kita Y ¹ , Murakami K ² , Fujii H ² (¹ Fac Dent Tokushima Univ, ² Dept Oral Microbiol Inst Biomed Sci, Tokushima Univ Grad Sch)
PS1-06	Ultra short-time method for tissue clearing and its application to cancer diagnosis and drug development ○Kanakubo C ¹ , Yokoyama M ¹ , Yoshida K ² , Sato J ² , Abiko Y ² , Tanimura A ¹ (¹ Div Pharmacol, Sch of Dent, Health Sci Univ Hokkaido, ² Div Pathol, Sch of Dent, Health Sci Univ Hokkaido)
PS1-07	Phenotypic analysis of precancerous tongue epithelium ○Hirohara T ^{1,2} , Taya Y ¹ , Sato K ¹ , Shimazu Y ³ , Soeno Y ¹ (¹ Dept Pathol, Nippon Dent Univ, ² Dept Med Technol, Azabu Univ, ³ Dept Food Life Sci, Azabu Univ)
PS1-08	Biological effects of alendronate for bone-specific blood vessels ○Yoshino H ¹ , Yoshida T ² , Miyamoto Y ³ , Qiu Z ³ , Amizuka N ³ , Hasegawa T ³ (¹ Hokkaido Univ, Sch Dent Med, ² Hokkaido Univ, Sch Dent Med, ³ Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
PS1-09	Inhibitory mechanism of adipogenesis by low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) ○Hashitani S ¹ , Nishida T ² , Nagao Y ¹ , Takigawa M ³ , Kubota S ^{2,3} (¹ Okayama Univ Sch Dent, ² Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ³ ARCOCS, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
PS1-10	Examination of preventing tooth staining by cyclic oligosaccharide ○Hirose T ¹ , Yoshikawa Y ² , Tsuda S ³ , Domae E ² , Kamada A ² , Ikeo T ² (¹ Undergraduate, Osaka Dent Univ, ² Dept Biochem, Osaka Dent Univ, ³ Dept Chem, Osaka Dent Univ)