

プログラム

■ ロッテ基金特別講演	2
■ 特別講演・市民公開講座	4
■ 歯科基礎医学会学会奨励賞受賞講演会	5
■ メインシンポジウム	6
■ イノベーション・ロードマップ・シンポジウム	11
■ 日本歯科理工学会共催シンポジウム	12
■ 日本骨形態計測学会合同シンポジウム	13
■ 日本学術会議シンポジウム	14
■ 先端歯学国際教育研究ネットワーク・シンポジウム	15
■ 教育セミナー（協賛：エルゼビア・ジャパン）	16
■ アップデートシンポジウム	17
■ Web セミナー	28
■ 一般演題（一般口演）	29
■ 一般演題（一般ポスター）	33
■ 一般演題（モリタ優秀発表賞応募ポスター）	44
■ 一般演題（学部学生ポスター）	51

※ 主に学術用語等の校正、COI 記載や記載形式の統一は行っていますが、抄録の記載内容（英文表現等）は、著者投稿原稿のままです。



JAOB JAPANESE ASSOCIATION FOR
ORAL BIOLOGY since 1959

SL1 ロッテ基金特別講演 1

Special lecture accorded by the LOTTE Foundation 1

座長：松口 徹也 (鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 口腔生化学分野)

Chair: Tetsuya Matsuguchi (Kagoshima Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Sci., Dept. Oral Biochemistry)



Modulators of Phosphate/Pyrophosphate play major roles during formation and regeneration of the periodontal complex

Martha J. Somerman

NIDCR, NIH/NIAMS, NIH Laboratory for Oral Connective Tissue Biology

略 歴 Career History

Director: NIDCR, NIH, 2011 – 2019

Chief: Laboratory of Oral Connective Tissue Biology, NIAMS, NIH, 2011 – present

Senior Advisory to NIDCR: 2020 - present

Clinical Staff: Clinical Center, NIH, 2011 – present

Dean: University of Washington School of Dentistry, 2002 – 2011 & Professor: UW, School of Dentistry, Dept. Periodontics, 2002 – 2011 and Pharmacology, School of Medicine

Chair: Dept. of Periodontics, Prevention & Geriatrics, Univ. of Michigan, School of Dentistry, 1991-2001 & Associate Dean for Research, UMich, Dentistry 2001 – 2002

Faculty: University of Maryland, School of Dentistry 1984 - 1990

Education: DDS NYU; Periodontology, Eastman & PhD Pharmacology, Univ. of Rochester, NY.

This presentation focuses on regulators of phosphate (Pi) and pyrophosphate (PPi) during formation and regeneration of the periodontia and highlights research supported by NIDCR. It is well recognized that the oral cavity is highly sensitive to perturbations in Pi/PPi, however specific factors and mechanisms involved remain elusive.

METHODS: To define the role of regulators of pericellular Pi/PPi concentrations during formation and regeneration of the periodontium murine models, with alterations in specific genes were generated: ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 (*Enpp1/ENPP1*), progressive ankylosis protein (*Ank/ANK*) and tissue-nonspecific alkaline phosphatase (*Alpl/TNAP*), osteopontin (*Spp1/OPN*) and bone sialoprotein (*Bsp/BSP*). Teeth from individuals with *ENPP1* mutations were analyzed. animal studies: blood profiles, microCT, histomorphometry, and a murine periodontal disease model. In vitro: cell lines were established using CRISPA-Cas9 technologies and analyzed under various conditions.

RESULTS: Decreasing expression of genes that play a role in maintaining levels of PPi within the periodontal region (*Enpp1* and *Ank*) resulted in a marked (tenfold) enhancement of cementum formation without compromising the periodontal ligament (PDL) in mice and humans (*Enpp1* mutations). Interestingly, double KO *Enpp1/Ank* mice exhibited a similar PDL phenotype to the single KOs, demonstrating the ability of factors within the PDL region to modulate mineral formation. In contrast, decreasing expression of genes associated with maintaining appropriate levels of Pi within the periodontal region resulted in limited cementum formation. Restoring Pi levels locally using a periodontal defect model promoted regeneration of cementum and surrounding bone. Moreover, in both cell culture and animal models we noted an association between BSP and ANK, linked in part to an effect of BSP on PPi concentrations, warranting further investigation.

CONCLUSIONS: Collectively, the data support an inverse relationship between levels of PPi and acellular cementum formation and provide evidence that factors modulating Pi/PPi locally are attractive therapeutics for regeneration of the periodontia.

SL2 ロッテ基金特別講演 2

Special lecture accorded by the LOTTE Foundation 2

座長：後藤 哲哉

(鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 歯科機能形態学分野)



エキスパートの直感思考の仕組み：将棋棋士とサッカー選手の研究から

田中 啓治

(理化学研究所 脳神経科学研究センター 認知機能表現研究チーム)

略 歴

2018年 - 現在	理化学研究所 脳神経科学研究センター チームリーダー
2003年 -2015年	理化学研究所 脳科学総合研究センター 副センター長
1997年 -2018年	理化学研究所 脳科学総合研究センター チームリーダー
1992年 -1997年	理化学研究所 情報科学研究室 主任研究員
1989年 -1996年	理化学研究所 フロンティア研究システム チームリーダー
1975年 -1989年	日本放送協会放送科学基礎研究所 研究員

特定の分野において普通の人の能力を遥かに超える優れた問題解決能力を示す人達をその分野のエキスパートと呼ぶ。エキスパートになるにはその分野での長い訓練が必要である。1950年代に始まる心理学的研究によりエキスパートの優れた能力の中心に直観のあることが示されてきた。しかし、エキスパートの直観思考の脳メカニズムについては不明であった。

私達はプロ棋士が詰め将棋問題を解くときの脳活動を機能的磁気共鳴画像法で測定し、問題をじっくりと分析的に解く場合と短時間に直観的に解く場合に共通に現れる大脳連合野の活動に加えて、問題を直観的に解くときには大脳基底核尾状核に活動が現れることを見出した。この発見の一般性を調べるために、プロサッカー選手に試合中のフィールドの動画を見せてパスを出す先を決めてもらったところ、やはり直観的に決めるときにだけ尾状核が活動した。

すなわち、将棋とサッカーに共通に、具体的行為の直観的決定は尾状核の活動と結びついていた。さて、直観にはいろいろな種類がある。複雑な状況の中で応答を迫られたとき、エキスパートはまず大まかな応答のカテゴリー（戦略）を決め、次にその戦略のもとで具体的な応答を決める。具体的応答を分析せずに決めるこのような戦略決定は直観的と言える。将棋のエキスパートが与えられた盤面で守るべきか攻めるべきかを短時間に決めるときに脳活動を調べたところ、帯状皮質が顕著に活動しており、その後部の活動が攻めの主観的価値を、前部が守りの主観的価値を表した。大脳基底核は多くの可能性の中から最も有望な行為を選ぶ選択のために有利な回路を発達させて持っている。帯状皮質は情動によって行為を自動的に選ぶ脳幹出力回路につながっている。

エキスパートは長い訓練の中で大脳皮質連合野における複雑な情報処理をこれらの自動装置につながることによって、認知的に複雑な問題解決を自動的に行う能力を得たのではないか。

PL 特別講演・市民公開講座

Special Lecture / Public Lecture

座長：仙波 伊知郎

(鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 口腔病理解析学分野)



ウイルス感染症とその最新治療薬 —新型コロナウイルス感染症からエイズまで—

馬場 昌範

(鹿児島大学 ヒトレトロウイルス学共同研究センター センター長)

略 歴

- 1980年3月 福島県立医科大学 医学部卒業
- 1984年3月 福島県立医科大学 大学院医学研究科修了（医学博士）
- 1994年4月 鹿児島大学 医学部附属難治性ウイルス疾患研究センター 教授
- 2010年4月 鹿児島大学 国際戦略本部長
- 2015年4月 鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 研究科長
- 2017年4月 鹿児島大学 副学長（国際企画推進担当）
- 2019年4月 国立大学法人鹿児島大学理事（総括理事・副学長，研究・国際担当）

1977年に副作用がほとんどなく、全身投与が可能な抗ヘルペス薬のアシクロビルが発見されてから、40年以上の歳月が経過した。その後、ウイルス感染症に対する治療薬の研究開発が本格化し、現在ではその対象がヒト免疫不全ウイルス（HIV-1）、インフルエンザウイルス、B型肝炎ウイルス（HBV）およびC型肝炎ウイルス（HCV）へと拡大している。中でも、「不治の病」として恐れられたエイズは、約35年にわたる精力的な研究の結果、多くの薬剤が開発されたことで、「制御可能な慢性疾患」へと変貌を遂げた。さらに、これまで困難を極めていたC型肝炎についても、抗ウイルス薬が開発されたことで、ほとんどの症例において、数か月で体内からHCVを駆逐できるようになった。このように、抗ウイルス薬はワクチンと並んで、ウイルス感染症の制圧には欠くことが出来ないものとなった。一方で、新興・再興感染症と呼ばれるウイルス感染症の蔓延が人類にとって大きな脅威になりつつあり、これには致死率が極めて高いエボラ出血熱、マダニが媒介し西日本に多発する重症熱性血小板減少症候群（SFTS）、そして言うまでもなく、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）が含まれる。

演者はこれまで約40年間、エイズやウイルス肝炎に対する治療薬の研究を行ってきた。そこで本講演ではこの経験を踏まえ、エイズやウイルス肝炎に加え、SFTSや新型コロナウイルス感染症についてもお話するとともに、これらの治療薬に関する自身の研究結果も交えながら、分かりやすく解説したいと思う。

- JR-1** **モノカルボン酸トランスポーター 1 は骨芽細胞分化の負の調節因子 p53 の抑制を介して骨芽細胞分化を促進する**
笹 清人 (昭和大学 歯学部 口腔生化学講座)
受賞対象論文: Monocarboxylate transporter-1 promotes osteoblast differentiation via suppression of p53, a negative regulator of osteoblast differentiation. *Scientific Reports* 8:1-12, 2018.
- JR-2** **咬筋運動ニューロン樹状突起における 5-HT_{2A} 受容体の活性化は Src を介して GluN2A を含む NMDA 受容体の機能を亢進する**
壇辻 昌典 (昭和大学 歯学部 口腔生理学講座)
受賞対象論文: 5-HT_{2A} receptor activation enhances NMDA receptor-mediated glutamate responses through Src kinase in the dendrites of rat jaw-closing motoneurons. *The Journal of physiology* 597(9):2565-89, 2019.
- JR-3** **FIB-SEM を用いた骨細胞の三次元微細構造解析**
長谷川 智香 (北海道大学 大学院歯学研究院 硬組織発生生物学教室)
受賞対象論文: Three-dimensional ultrastructure of osteocytes assessed by focused ion beam-scanning electron microscopy (FIB-SEM). *Histochemistry and Cell Biology* 149:423-32, 2018.
- JR-4** **マウス脛骨発生過程における septoclast の由来と発生**
坂東 康彦 (明海大学 歯学部 形態機能生育学講座 解剖学分野)
受賞対象論文: Origin and development of septoclasts in endochondral ossification of mice. *Histochemistry and Cell Biology* 149:645-54, 2018.
- JR-5** **オステオカルシンによる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 (九州大学 大学院歯学研究院 附属 OBT 研究センター)
受賞対象論文: GLP-1 signaling is required for improvement of glucose tolerance by osteocalcin. *Journal of Endocrinology* 244(2):285-96, 2020.

MS1 メインシンポジウム 1

Main Symposium 1

コーディネータ：齋藤 充（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 口腔生理学分野）

座長：重村 憲徳（九州大学 大学院歯学研究院 口腔機能解析学分野）

座長：瀬田 祐司（九州歯科大学 口腔組織機能解析学分野）

テーマ 味覚の新知見：発生から認知，行動表出まで

味覚は，糖，塩分，アミノ酸や脂肪などの必須栄養素を外界から探索・摂取するための鍵センサーである。各味覚情報は味細胞の特異的な味覚受容体を起点として始まり，味細胞の興奮，味神経への伝達，そして視床を介した大脳皮質への情報伝達により甘い／塩辛いなどの味覚認知・識別が行われる。さらにその味覚情報は扁桃体において嗜好性・情動の決定に寄与し，また視床下部への情報は摂食行動を調節する。さらに，唾液・消化液・ホルモン分泌の反射的調節や，咀嚼・嚥下運動を調節する起点ともなる。このように味覚は生命維持に重要な役割を担うが，その情報伝達の詳細な分子メカニズムや中枢神経回路については未だ不明な点が多い。

そこで本シンポジウムでは，味覚の様々なレベルでの新知見，具体的には，味蕾の発生，味蕾オルガノイド，脂肪味の受容・神経伝達，甘味の中枢神経回路についてご紹介頂き，味覚機能の統合的な理解の一助となることを目的とする。

MS1-1 味蕾細胞分化の制御機構

三浦 裕仁（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 口腔生理学分野）

MS1-2 オルガノイド培養系を用いた味細胞分化メカニズム解明への新たなアプローチ

高井 信吾（九州大学 大学院歯学研究院 口腔機能解析学分野）

MS1-3 マウス脂肪酸センサーの機能解析

安松 啓子（東京歯科大学 口腔科学研究センター）

MS1-4 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（自然科学研究機構生理学研究所 生殖・内分泌発達機構研究部門）

MS2 メインシンポジウム 2

Main Symposium 2

コーディネータ：後藤 哲哉（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 歯科機能形態学分野）

座長：松下 健二（国立長寿医療研究センター 口腔疾患研究部）

座長：後藤 哲哉（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 歯科機能形態学分野）

テーマ アルツハイマー病研究の新展開

平均寿命が延びて高齢化が進む現代社会では、高齢者の認知症の問題が顕在化してきた。アルツハイマー病が初めて報告されたのは100年以上前であったが、当時は平均寿命が今ほど長くなかったため認知症はさほど問題にならず、長生きは称賛の対象であった。現在の様に平均寿命が80歳を超える様になると認知症の問題が顕在化し、その解析も最近30年ほどで病態はもとより診断、対応、治療方法などに対して多くの努力がなされてきた。病態はかなり解析され、認知症モデルマウスも開発されたが、いまだに認知症に対する有効な治療薬は見つかっていない。現在も認知症の治療薬の開発は試みられているが、現状では認知症の対応は予防の方にシフトしている。認知症に関わるリスクファクターは老化以外に、糖尿病や肥満、そして口腔領域では歯周病と残存歯数の減少などが報告されている。

本シンポジウムではリスクファクターのうち、肥満、歯周病、歯の喪失について最近の研究結果と今後の展開について紹介する。

MS2-1 肥満・糖尿病とアルツハイマー病

里 直行（国立長寿医療研究センター 分子基盤研究部）

MS2-2 老いの入り“口”からアルツハイマー病の病因を読み解く

松下 健二（国立長寿医療研究センター 口腔疾患研究部）

MS2-3 三叉神経の神経変性とアルツハイマー病

- 歯の喪失がアルツハイマー病の進行を早めるメカニズム -

後藤 哲哉（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 歯科機能形態学分野）

MS3 メインシンポジウム 3

Main Symposium 3

コーディネータ：仙波 伊知郎（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 口腔病理解析学分野）

座長：三浦 裕仁（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 口腔生理学分野）

座長：仙波 伊知郎（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 口腔病理解析学分野）

テーマ 発生から再生への挑戦

健康長寿社会の実現に向けた我が国の第2期健康・医療戦略（2020年3/27閣議決定）では6分野の1つに「再生・細胞医療・遺伝子治療」を掲げ、世界最高水準の医療の提供に資する医療分野の研究開発の推進と、健康長寿社会の形成に資する新産業の創出および国際展開の促進を柱に据え、研究開発を進める方針です。「再生・細胞医療・遺伝子治療」はiPS細胞の臨床応用を始めとして、実際的な再生医療の実現に社会的にも大きな期待が寄せられています。一方で、臓器・組織レベルでの再生医療は、胎生期の臓器・組織発生を成人で実現する事の困難性から、その実現への道程はlong and winding roadと想像されます。

本シンポジウムでは、口腔領域に特有の歯、唾液腺、味蕾等の臓器・組織の再生を発生視点から再考し、再生医療の実現に必要な基礎研究と応用への挑戦の端緒となる話題をご提供頂き、新たにこの分野に挑戦する若手の方々にとっても有益な機会にしたいと思います。

MS3-1 歯数制御による歯の再生治療薬の開発

高橋 克（京都大学 大学院医学研究科 感覚運動系外科学講座 口腔外科学）

MS3-2 3次元唾液腺組織の作出とその応用

美島 健二（昭和大学 歯学部口腔病態診断科学講座 口腔病理学部門）

MS3-3 マウス味蕾におけるプロトカドヘリン 20 の発現

重村 憲徳（九州大学 大学院歯学研究院 口腔機能解析学分野）

MS4 メインシンポジウム 4

Main Symposium 4

コーディネータ：松尾 美樹（広島大学 大学院医系科学研究科 細菌学教室）

座長：住友 倫子（大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 口腔細菌学教室）

座長：松尾 美樹（広島大学 大学院医系科学研究科 細菌学教室）

テーマ 微生物の可能性と応用への挑戦

これまでの細菌学領域の研究は、「微生物の産業応用」と「微生物の制圧」という拮抗した2つの分野が存在していた。近年、この2つの領域に加え、「創薬イノベーションに向けたヒト常在細菌叢研究」という新たな領域の研究が盛んになっている。この領域の特徴としては、これまで一般人が認識することのなかった「ヒトに細菌が常在し、共存関係を結ぶ」という事実を世の中に知らしめただけではなく、常在細菌が宿主であるヒトの健康における key factor の一つであるという認識を多くの一般人にまで浸透させた。その流れに沿うように、細菌学研究も転換期を迎え、これまでの個々の細菌の病原因子を探る研究から、生体内における細菌の振る舞い、共存拮抗のメカニズム解明による感染症の予防や治療法を確立する研究が産声をあげた。

本セッションでは、細菌学領域の最先端を走る若手研究者の研究紹介に加え、微生物研究が今後どのような可能性を秘めているかについても議論を展開したい。

MS4-1 我々が飲み込んでいる口腔常在微生物叢の構成と健康状態との関連

竹下 徹（九州大学 大学院歯学研究院 口腔予防医学分野）

MS4-2 消化管内細菌叢がもたらす生体恒常性と疾患

福田 真嗣（慶応大学 先端生命科学研究所）

MS4-3 レンサ球菌感染症の重症化機構の解明

～新たな感染制御法の開発を目指して～

住友 倫子（大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 口腔細菌学教室）

MS5 メインシンポジウム 5

Main Symposium 5

コーディネータ：佐藤 友昭（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 歯科応用薬理学分野）

座長：筑波 隆幸（長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯科薬理学分野）

座長：佐藤 友昭（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 歯科応用薬理学分野）

テーマ 歯科薬理学の新しい潮流

Wells や Morton が笑気やエーテルを用い、今日の無痛治療をもたらした流れをつくったように、歯科領域では薬物を用いた最新の研究が絶え間なく続けられています。20 世紀研究の主流は、齶蝕治療、歯周病治療、あるいは齶蝕予防に用いられる抗菌薬物、鎮痛薬、歯科用局所麻酔薬、止血薬などが中心でしたが、近年の遺伝子工学、分子生物学、そして再生医療の進歩に基づき、歯科領域においても分子標的治療薬開発をめざした強く新しい流れが起きています。

今回、本大会テーマでもある「令和の新時代を拓く口腔基礎医学の挑戦」に相応しく、歯科薬理におけるこの新たな潮流について、3 人の演者の先生にご講演をお願い致しました。北海道大学の飯村先生には、骨代謝疾患のドラッグリポジショニングに関して、岡山大学の岡元先生には、Rab11 による破骨細胞制御について、更に、長崎大学の門脇先生には Rab タンパクの広範な治療標的の可能性として Rab44 とリソソーム機能、炎症応答についてお話しいただきます。

令和の歯科薬理における新たな潮流の昂りをこのシンポジウムにて実感して下さい。

MS5-1 リソソームとアレルギー疾患制御

門脇 知子（長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 フロンティア口腔科学分野）

MS5-2 破骨細胞における細胞内輸送タンパク質 Rab ファミリーの役割

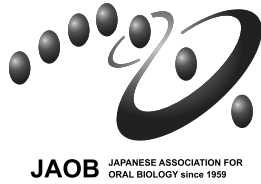
岡元 邦彰（岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯科薬理学分野）

MS5-3 骨代謝疾患とドラッグリポジショニング研究

飯村 忠浩（北海道大学 大学院歯学研究院 薬理学教室）

IRS イノベーション・ロードマップ・シンポジウム

Innovation Roadmap Symposium



コーディネータ：清島 保（九州大学 大学院歯学研究院 口腔病理学分野）
座長：豊澤 悟（大阪大学 大学院歯学研究所 顎口腔病態制御学講座 口腔病理学教室）
座長：清島 保（九州大学 大学院歯学研究院 口腔病理学分野）

テーマ がんの発生と制御への挑戦

日本歯科医学会の記念事業として、本学会では、わが国の「2040年問題」に向けて近未来の歯科はどのように展開していくかというロードマップに4課題を掲げています。本年は、第2回シンポジウムとして「がんの発生と制御への挑戦」を行いたく思います。

口腔がんは、直接観察できる口腔内に発生するにも関わらず、5年生存率の改善は未だみられず、口腔という高度な機能を有する器官の特性上、進行するとQOLが著しく低下します。口腔がん撲滅には、早期発見・早期治療が最も有効な医療行為であり、特に早期発見に歯科医の関与は欠かせません。口腔がん撲滅へのロードマップとして、早期口腔がんを「知る」、「診る」、「治す」の3期に分けて研究を展開し、新規治療開発へと繋げたいと考えています。

本シンポジウムでは、第1期の「早期口腔癌を知る」に焦点を当て4名のシンポジストから癌発生に関与する最先端研究をご紹介します。鹿児島大学の杉浦剛先生には臨床の立場から新たな早期癌診断法の開発、大阪大学の宇佐美悠先生には発癌過程における血管形成の変化とその分子機序、九州大学の藤井慎介先生には癌における増殖および分化転換の新規分子基盤、および九州大学の山元英崇先生にはHPV感染頭頸部癌の臨床病理学的特徴をご講演頂き、口腔がんに対する歯科学の挑戦を考えたいと思います。

オーバービュー：井上 富雄（昭和大学 大学院歯学研究所 口腔生理学講座）

IRS-1 口腔がんの早期治療のための発がん・転移のリアルタイムモニタリング：臨床の立場から

杉浦 剛（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 顎顔面疾患制御学分野）

IRS-2 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（大阪大学 大学院歯学研究所 顎口腔病態制御学講座 口腔病理学教室）

IRS-3 口腔扁平上皮癌における増殖および分化転換の新規分子基盤の解明

藤井 慎介（九州大学 大学院歯学研究院 口腔病理学分野）

IRS-4 HPV 関連頭頸部癌の病理

山元 英崇（九州大学 大学院医学研究院 形態機能病理学講座）

DS

日本歯科理工学会共催シンポジウム

Joint Symposium with The Japanese Society for Dental Materials and Devices



コーディネータ：菊地 聖史（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 歯科生体材料学分野）

座長：宇田川 信之（松本歯科大学 大学院歯学独立研究科 硬組織機能解析学）

座長：菊地 聖史（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 歯科生体材料学分野）

テーマ 生体材料による骨再生治療への挑戦

国内の基礎系歯学研究者の多くがメインの学会として「歯科基礎医学会」に所属している一方で、同じ基礎系の歯科理工学の研究者については、その多くが「日本歯科理工学会」に所属しています。今般、第62回学術大会を鹿児島で開催するにあたり、両学会の交流をより深めるべく、共催という形でシンポジウムを開催することになりました。

両学会員に共通して関心の高い話題ということで「骨再生」をテーマに据え、同研究の最前線でご活躍中のシンポジストとして歯科基礎医学会側から自見英治郎先生（九州大学）、日本歯科理工学会側から石川邦夫先生（九州大学）と松本卓也先生（岡山大学）にご講演いただきます。座長は、骨代謝研究の第一人者の宇田川信之先生（松本歯科大学）とコーディネータの菊地聖史（鹿児島大学）が担当します。

DS-1 骨再生の細胞分子生物学

自見 英治郎（九州大学 大学院歯学研究院 附属 OBT センター）

DS-2 炭酸アパタイト人工骨による骨再生治療

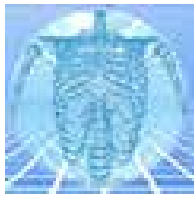
石川 邦夫（九州大学 大学院歯学研究院 生体材料学分野）

DS-3 材料科学の視点による骨石灰化の再評価と骨の新しい作り方への応用

松本 卓也（岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 生体材料学分野）

BS**日本骨形態計測学会合同シンポジウム**

Joint Symposium with Japanese Society for Bone Morphometry


JAOB JAPANESE ASSOCIATION FOR
 ORAL BIOLOGY since 1959

コーディネータ：青木 和広（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 口腔基礎工学分野）

座長：山本 智章（新潟リハビリテーション病院 新潟骨の科学研究所）

座長：網塚 憲生（北海道大学 大学院歯学研究院 硬組織発生生物学教室）

テーマ 石灰化組織評価の実践とネットワークング

非脱灰硬組織標本は情報に満ちあふれている。本シンポジウムでは脱灰した標本を用いた骨組織観察では知りえない石灰化組織評価の魅力をお伝えしたい。骨リモデリングを数値化できる骨形態計測法は、蛍光色素を2度投与することにより、関心領域における骨芽細胞の活動範囲、活動性、石灰化を評価でき、さらに骨吸収の状態や骨リモデリングにかかる時間を推定できる。したがって、代謝性骨疾患の病態や薬剤投与後の骨代謝の変化を細胞の分化・活性の変化として捉え、さらにはターゲット分子の骨における生理的役割解明にも役に立つ。また、顎骨特有の特徴や顎骨壊死の病態把握を深めることもできる。工学系の解析機器を用いてコラーゲンに対するハイドロキシアパタイトの配向性変化を捉えるなど骨質解析にも硬組織標本は有用である。

この合同シンポジウムにおける様々な石灰化組織評価法に関する講演をご視聴頂くことにより、今後の硬組織研究の発展に寄与するネットワークづくりが進めば幸いである。

BS-1 顎骨研究における骨形態計測法の活用

江尻 貞一（朝日大学 共同研究室）

BS-2 骨形態計測法の臨床医的意義

山本 智章（新潟リハビリテーション病院 新潟骨の科学研究所）

BS-3 骨形態計測法からシグナル伝達研究への発展

青木 和広（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 口腔基礎工学分野）

BS-4 骨吸収抑制薬関連顎骨壊死の病理学と組織学

黒嶋 伸一郎（長崎大学 生命医科学域 口腔インプラント学分野）

BS-5 骨質指標としての骨基質（コラーゲン／アパタイト）配向性による石灰化組織の評価

中野 貴由（大阪大学 大学院工学研究科 材料機能化プロセス工学講座 生体材料学領域）

BS-6 骨形態計測法による骨粗鬆症薬の評価

田中 伸哉（埼玉医科大学 医学部 整形外科）

CS 日本学術会議シンポジウム

Symposium Cooperated by Science Council of Japan



後援：日本生命科学アカデミー

コーディネータ：宇尾 基弘（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 先端材料評価学分野）

座長：井上 富雄（昭和大学 歯学部 口腔生理学講座）

座長：後藤 多津子（東京歯科大学 歯科放射線学講座）

テーマ 口腔と全身のネットワーク～咀嚼・嚥下と脳・神経系の連関～

日本学術会議第2部（生命科学）に属する歯学委員会の第24期のテーマは「口腔からの先制医療をめざす口腔科学研究の展開」ということで活動を行っています。口腔は摂食、嚥下、味覚、発話など、様々な機能を有する器官であります。口腔の機能を正常に保つことは、とりもなおさず生体の恒常性を維持するのに、欠くことのできない重要な器官であることはご存知のとおりであります。特に嚥下や口腔感覚など、口腔と高次脳との機能連関を解明することは、口腔機能に端を発した様々な疾患に対する効果的な治療・介入・予防法や口腔機能評価・回復のためのデバイスの開発につながり、口腔フレイル、さらには認知症予防指針の確立につながることを期待されます。そこで日本学術会議歯学委員会では、咀嚼・嚥下などの口腔機能と脳・神経機能が相互に及ぼす影響を考える上で重要な神経科学的解析を理解するために、「咀嚼・嚥下と脳・神経機能の連関」というテーマのシンポジウムを企画しました。

今回は、口腔機能に関して先駆的に活躍している上阪 直史先生（東京医科歯科大学 医歯学総合研究科 認知神経生物学分野）、中村 史朗先生（昭和大学 歯学部 口腔生理学講座）および小野 岳人先生（東京医科歯科大学 医歯学総合研究科 分子情報伝達学分野）の3名の研究者に、神経科学的アプローチによる口腔機能評価を基盤とした口腔と脳・神経ネットワークの連関についてご講演いただき、口腔科学研究を推進し、口腔先制医療への展望を築くことを目指しております。

オーバービュー：岩田 幸一（日本大学 歯学部 口腔生理学講座）

CS-1 運動機能を司る小脳の発達：咀嚼嚥下の機能発達の理解を目指して

上阪 直史（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 認知神経生物学分野）

CS-2 咀嚼運動制御に関わる神経基盤：脳幹に存在する顎運動制御回路について

中村 史朗（昭和大学 歯学部 口腔生理学講座）

CS-3 咀嚼による脳機能制御機構を運動器科学の視点から再考する

小野 岳人（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 分子情報伝達学分野）

AD 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

コーディネータ：石丸 直澄（徳島大学 大学院医歯学研究部 口腔科学研究部 口腔分子病態学分野）
座長：村上 伸也（大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学）
座長：石丸 直澄（徳島大学 大学院医歯学研究部 口腔科学研究部 口腔分子病態学分野）

テーマ 歯学研究の今昔と次世代研究

2005年に組織された先端歯学国際教育研究ネットワークは、進展する歯学分野の喫緊の課題に加え、分野を超えた自然科学での挑戦的研究テーマに取り組む卓越した若手歯学研究者を大きく育むことで、学術の進歩とそれを通じて国民の健康、福祉に寄与することを目標としている。

本シンポジウムでは、先端歯学スクール出身で現在活躍中の歯学研究者の最先端研究に加え、これまで歯学研究を牽引してきたシニア研究者からの次世代の歯学研究についてのメッセージを頂きたい。

AD-1 脂肪細胞の「数と質」を改善するオステオカルシン

大谷 崇仁（福岡歯科大学 生体構造学講座 機能構造学分野）

AD-2 多角的アプローチによる口腔癌の発生・進展の分子機構の解明

常松 貴明（徳島大学 大学院医歯薬学研究部 口腔分子病態学分野）

AD-3 DEL-1 分子誘導による抗炎症および骨形成メカニズムの解明

前川 知樹（新潟大学 大学院医歯学総合研究科 高度口腔機能教育研究センター）

AD-4 「先端歯学国際教育研究ネットワーク」の過去・現在・未来

山口 朗（東京歯科大学 口腔科学研究センター）

ES 教育セミナー (協賛: エルゼビア・ジャパン)
Educational seminar (in cooperation with Elsevier Japan)



コーディネータ・座長: **網塚 憲生** (北海道大学 大学院歯学研究院 硬組織発生生物学教室)

テーマ 効率的な研究成果のアピール方法について

第62回 歯科基礎医学会学術大会における「教育セミナー」は、従来のランチョンセミナー(共催: エルゼビア)を踏襲した企画であり、歯科基礎医学会の機関誌である Journal of Oral Biosciences の編集長を、長年、お勤め頂いた大島勇人教授(前編集長, 新潟大学)にご講演頂く。これまでに、大島先生は若手研究者のための Author Workshop をテーマに学術論文作成に関する教育講演を行っており、毎回、多くの先生方にご参加頂いている。(これまでの講演記録は歯科基礎医学会のホームページ <http://www.jaob.jp/publication/luncheon.html> で掲載しているので、ご参照頂きたい。)

今回の歯科基礎医学会学術大会の教育セミナーでは、「効率的な研究成果のアピール方法について」というご演題で大島先生にご講演頂く予定である。学会会員の皆様のご参考になれば幸いに存ずる。

ES 効率的な研究成果のアピール方法について
大島 勇人 (新潟大学 大学院医歯学総合研究科 硬組織形態学分野)

US1 アップデートシンポジウム 1

Update Symposium 1

オーガナイザー：宇田川 信之（松本歯科大学 歯学部 口腔生化学講座）
座長：宇田川 信之（松本歯科大学 歯学部 口腔生化学講座）
座長：網塚 憲生（北海道大学 大学院歯学研究科 硬組織発生生物学）

テーマ RANKL-RANK-OPG シグナル研究の最前線

骨芽細胞由来の破骨細胞分化因子である RANKL の発見（1997 年）から 20 年が経過し、RANKL 中和抗体が骨粗鬆症や高カルシウム血症の治療薬として臨床応用されるに至った。一方、RANKL のデコイ受容体であるオステオプロテゲリン（OPG）は、骨（オステオ）を保護（プロテクト）するサイトカインとしての重要性が証明されてきた。

今回のシンポジウムにおいては、RANKL-RANK-OPG シグナルの新しい側面について、4 名の先生方の最先端の研究成果を発表していただき討論を行いたい。

US1-1 膜型 RANKL を標的にした骨形成促進薬の開発

青木 和広（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 口腔基礎工学分野）

US1-2 RANKL-OPG バランスによる腸管恒常性維持

木村 俊介（慶應義塾大学 薬学部 生化学）

US1-3 心血管保護因子としてのオステオプロテゲリン

鶴田 敏博（宮崎大学 医学部 内科学）

US1-4 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 第一研究所）

US2 アップデートシンポジウム 2

Update Symposium 2

オーガナイザー：山城 隆（大阪大学 大学院歯学研究科 顎顔面口腔矯正学教室）

座長：山城 隆（大阪大学 大学院歯学研究科 顎顔面口腔矯正学教室）

座長：井関 祥子（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 分子発生学分野）

テーマ 先天性顎顔面形成不全研究の現在と展望

石灰化基質を合成する象牙芽細胞，骨芽細胞は，多くの共通点を有する一方，その分化発生は異なり，象牙質・骨基質完成後に象牙芽細胞または骨芽細胞へ分化する前駆細胞群やその機能には多くの違いがあると考えられる．骨芽細胞は前骨芽細胞・骨髄間質細胞から分化し，最終的に骨基質内の骨細胞に分化する一方，象牙芽細胞は歯髄の細胞群から分化し，その後，象牙芽細胞が基質内部に埋め込まれることはない．

本シンポジウム「骨芽細胞・象牙芽細胞分化研究の New Horizon」では，象牙芽細胞・骨芽細胞分化の最新知見を取り上げたい．

US2-1 顎顔面形成不全を伴う希少疾患の基礎研究

- 病態解明から診断，治療法開発への展開 -

黒坂 寛（大阪大学 大学院歯学研究科 顎顔面口腔矯正学教室）

US2-2 A neurocristopathy dataset identifies novel genetic links to syndromic craniofacial and cardiac anomalies

Karen J. Liu（Centre for Craniofacial and Regenerative Biology, King's College London）

US2-3 神経堤細胞由来頭部間葉の分化について

井関 祥子（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 分子発生学分野）

US3 アップデートシンポジウム 3

Update Symposium 3

オーガナイザー： 藺村 貴弘（朝日大学 歯学部 解剖学講座）

座長： 田松 裕一（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 解剖法歯学分野）

座長： 上村 守（大阪歯科大学 歯学部 解剖学講座）

テーマ 頭頸部肉眼解剖の新展開

「構造なくして機能なし，機能なくして生体なし」と言われるように，人体構造の基盤的知識となる解剖学の理解が，基礎研究においても臨床医学的にも重要であることは論を待たない．特に頭頸部の肉眼解剖学の分野は，複雑かつ重要な器官系が三次元的に混在しているため，近年，新しい切り口により，これまで観察されていなかった興味深い知見が多数報告されている．

本シンポジウムでは，頭頸部の肉眼解剖学の次世代を担う研究者から，それらの新たな着想と所見をご紹介いただき，今後の歯科医学における頭頸部肉眼解剖学の将来展望について議論を深めたい．

US3-1 部分的重複内頸静脈における考察

上村 守（大阪歯科大学 歯学部 解剖学講座）

US3-2 舌神経の解剖学的研究

下高原 理恵（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 解剖法歯学分野）

US3-3 舌神経～神経線維解析による新規所見～

竹澤 康二郎（日本歯科大学 新潟生命歯学部 解剖学第1講座）

US3-4 側頭骨内における鼓索神経の走行の再検討

藺村 貴弘（朝日大学 歯学部 解剖学講座）

US4 アップデートシンポジウム 4

Update Symposium 4

オーガナイザー：柏俣 正典（朝日大学 歯学部 歯科薬理学分野）

座長：柏俣 正典（朝日大学 歯学部 歯科薬理学分野）

座長：嶋 香織（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 口腔病理解析学分野）

テーマ 外分泌機能解明のブレイクスルー ～唾液腺・涙腺・膵臓の若手研究者たち～

わが国の外分泌腺の機能究明は歯科学、とりわけ歯科基礎医学が今日までリードしてきた。現在も、唾液腺研究が最前線の一つになっている。しかし、単一の領域でさらなる展開を図るには限界がある。そこで、その最前線を強力に推し進め、ブレイクスルーを果たす可能性を秘めた唾液腺以外の外分泌腺研究者を交え、唾液腺研究の新展開を議論したい。

US4-1 発生過程の解明に基づく唾液腺再生への可能性

皆木 瞳（岡山大学 医学部 細胞組織学講座）

US4-2 唾液腺の分泌機能を亢進する因子の検索

横山 愛（日本大学 松戸歯学部 生理学講座）

US4-3 ラット摘出膵臓の内外分泌能におけるトリプシン活性阻害の影響

森田 亜州華（獨協医科大学 医学部 薬理学講座）

US4-4 モデル動物を用いた網羅的遺伝子発現解析による涙液分泌能低下原因の探索

大野 雄太（朝日大学 歯学部 歯科薬理学分野）

US4-5 涙液分泌能低下の予防に向けた食品素材の探索～ブルーベリー葉の可能性

小川 健二郎（宮崎大学 農学部 応用生物学科）

US5 アップデートシンポジウム5

Update Symposium 5

オーガナイザー：岡村 裕彦（岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 口腔形態学分野）

座長：吉子 裕二（広島大学 大学院医系科学研究科 硬組織代謝生物学）

座長：岡村 裕彦（岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 口腔形態学分野）

テーマ 発生と疾患にみる新たな細胞間コミュニケーション

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の世界的蔓延により，我々の日常生活や社会行動の様式が大きく変化した。対面式の講義や会議が行えない中，オンライン等の新たな方式が急速に導入された。このような新たな方式は感染症が収束した後も少なからず普及・改良されていくと思われる。人間社会がそうであるように，細胞の世界のコミュニケーション様式も進化や周囲の環境に応じて“しなやかに”変化していくのではないだろうか。

本シンポジウムでは，細胞外に放出される小胞や分泌因子に焦点を当て，「新たな細胞間コミュニケーション」について討論したい。各シンポジストの方々には，顎顔面領域の形態形成における Shh シグナリング（武智），象牙質および歯髄の分化と形成におけるエクソソーム（福島），骨代謝における基質小胞内の miR-125b（南崎），歯周病原菌感染マクロファージ由来の細胞外小胞（吉田），胎生期における母体腸内細菌叢の影響（福原），腫瘍オルガノイドを用いたドラッグリポジショニング（江口）に関して最新の知見をご紹介いただく。

US5-1 ソニック・ヘッジホッグとその下流因子による頭蓋顎顔面の形態形成

武智 正樹（東京医科歯科大学 大学院医歯薬学総合研究科 分子発生学分野）

US5-2 骨微小環境における骨基質 miR-125b の役割

南崎 朋子（広島大学 大学院医系科学研究科 硬組織代謝生物学）

US5-3 歯牙形成過程におけるエクソソーム関連タンパク質の発現と局在

福島 美和子（昭和大学 歯学部 口腔解剖学）

US5-4 歯周病原菌 - マクロファージ間コミュニケーションに起因する全身疾患発症機構

吉田 賀弥（徳島大学 大学院医歯薬学総合研究部 口腔保健教育学分野）

US5-5 オルガノイドと細胞外小胞を癌研究に応用する

江口 傑徳（岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯科薬理学分野）

US5-6 母体腸内細菌叢の有無が胎児骨格形成に与える影響

福原 瑤子（岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 口腔形態学分野）

US6 アップデートシンポジウム 6

Update Symposium 6

オーガナイザー：長谷川 智香（北海道大学 大学院歯学研究院 硬組織発生生物学教室）

座長：長谷川 智香（北海道大学 大学院歯学研究院 硬組織発生生物学教室）

座長：大島 勇人（新潟大学 大学院医歯学総合研究科 硬組織形態学分野）

テーマ 骨芽細胞・象牙芽細胞分化研究の New Horizon

石灰化基質を合成する象牙芽細胞，骨芽細胞は，多くの共通点を有する一方，その分化発生は異なり，象牙質・骨基質完成後に象牙芽細胞または骨芽細胞へ分化する前駆細胞群やその機能には多くの違いがあると考えられる．骨芽細胞は前骨芽細胞・骨髄間質細胞から分化し，最終的に骨基質内の骨細胞に分化する一方，象牙芽細胞は歯髄の細胞群から分化し，その後，象牙芽細胞が基質内部に埋め込まれることはない．

本シンポジウム「骨芽細胞・象牙芽細胞分化研究の New Horizon」では，象牙芽細胞・骨芽細胞分化の最新知見を取り上げたい．

US6-1 骨芽細胞と象牙芽細胞の由来・分化・表現型の違い

大島 勇人（新潟大学 大学院医歯学総合研究科 硬組織形態学分野）

US6-2 硬組織形成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（鶴見大学 歯学部 分子生化学講座）

US6-3 Cre/loxP 遺伝子情報改変技術を用いた間葉系幹細胞の分化機構の解明

溝口 利英（東京歯科大学 口腔科学研究センター）

US6-4 骨血管連関からみた骨芽細胞系細胞の分化

長谷川 智香（北海道大学 大学院歯学研究院 硬組織発生生物学教室）

US7 アップデートシンポジウム7

Update Symposium 7

オーガナイザー・座長：鷲尾 純平 (東北大学 大学院歯学研究科 口腔生化学分野)

オーガナイザー・座長：大島 朋子 (鶴見大学 歯学部 口腔微生物学講座)

オーガナイザー・座長：佐藤 拓一 (新潟大学 大学院保健学研究科 検査技術科学分野)

オーガナイザー・座長：眞島 いづみ (奥羽大学 歯学部 口腔病態解析制御学講座 口腔感染免疫学分野)

オーガナイザー・座長：永野 恵司 (北海道医療大学 歯学部 口腔生物学系微生物学)

テーマ

The Challenge Reports on Oral Microbiota by Young Researchers: In Memory of Professor Nobuko Maeda

本シンポジウムは、口腔バイオフィルムと口腔の健康あるいは種々の疾患との関連について、最新情報を提供することを目的としています。また、今春、急逝された前田伸子教授追悼を念頭に、口腔微生物研究の灯を皆で引き継いでいきたいとするメモリアルミーティングの意味合いも加味したいと考えております。特に若手研究者を中心にご発表をいただき、口腔微生物研究の未来を明るく照らすようなシンポジウムを目指して行きたいと考えております。なお、本シンポジウムは英語での開催を予定しております。

US7-1 Analysis of Plaque Microbiota and Salivary Proteins Adhering to Dental Materials

Yoko Mukai (School of Dental Medicine, Department of Oral Microbiology, Tsurumi University)

US7-2 Profiling of Microbiota of Baby-Drinks after Drinking with Artificial Nipples

Anna Wakui² & Hiroto Sano^{1,2}

¹Department of Pathology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata;

²Division of Clinical Chemistry, Niigata University Graduate School of Health Sciences)

US7-3 Development of Oral Microbiota during the First Two Years of Life

Shinya Kageyama (Graduate School of Dentistry, Section of Preventive Dentistry and Public Health, Kyushu University)

US7-4 The Antimicrobial Properties of Green Tea-Derived Epigallocatechin Gallate on *Streptococcus mutans*

Han Sili (Graduate School of Dentistry, Division of Oral Ecology, Tohoku University)

US7-5 Effect of Nitrate (NO₃⁻) and Nitrite (NO₂⁻) on the Growth and NO₂⁻ Producing Activity of Oral *Veillonella* Species

Dimas Prasetianto Wicaksono (Graduate School of Dentistry, Division of Oral Ecology, Tohoku University)

US7-6 A Study on Fimbriae of Oral *Prevotella* spp.

Keiji Nagano (School of Dentistry, Department of Oral Microbiology, Health Sciences University of Hokkaido)

US8 アップデートシンポジウム 8

Update Symposium 8

オーガナイザー：加藤 隆史（大阪大学 大学院歯学研究科 高次脳口腔機能学講座 口腔生理学教室）

座長：加藤 隆史（大阪大学 大学院歯学研究科 高次脳口腔機能学講座 口腔生理学教室）

座長：小野 堅太郎（九州歯科大学 健康増進学講座 生理学分野）

テーマ 若手研究者による口腔生理学最前線

「口腔生理学」の範疇において、自ら研究計画を立案して実験を行い、意欲的に研究活動を展開している若手研究者にご自身の研究をご発表いただく。同分野の研究者同士が若手の最前線研究について認識を深め、交流をもつことにより、新たな方向性について模索することを目的として、毎年企画しています。

US8-1 毒物投与モデル動物における嗅覚 / 味覚障害発症機構の解明

佐藤 元（大阪大学 大学院歯学研究科 口腔生理学教室）

US8-2 歯と体内時計のバイオロジー ～象牙質形成のウルトラディアンリズム～

小野 龍太郎（京都府立医科大学 大学院医学研究科 統合生理学教室）

US8-3 咬合不調和による慢性的な交感神経系の活性化は心房細動に対する脆弱性を高める

吹田 憲治（鶴見大学 歯学部 生理学講座）

US9 アップデートシンポジウム 9

Update Symposium 9

オーガナイザー：安松 啓子（東京歯科大学短期大学）

座長：城戸 瑞穂（佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座 組織・神経解剖学）

座長：安松 啓子（東京歯科大学短期大学）

テーマ キャリアシンポジウム 独創的な研究の実現のために

研究者として、独創的な研究を実現していくには、挑戦的で魅力的な研究テーマを選択し、多様なメンバーを引きつけ、継続して研究実績を上げながら資金を獲得し、発展させて行く必要がある。そのためには、メンバーと研究成果を分かち合う円滑な関係を築くこと、公正で適切な議論を重ねること、さらに、国内外の共同研究のあり方や企業との連携の構築などが必要である。その過程で多くの研究者は課題に直面することが少なくない。

本シンポジウムでは、歯科基礎医学を牽引するリーダーから、どのように独自の領域を拓き、後進を育成し、研究室を運営するのをお話しいただく。独立した研究者を目指す研究者が、楽しみながら持続的に研究を実現する具体的なビジョンを見出す機会となることを期待する。

US9-1 技術者として生きた半世紀

山田 好秋（東京歯科大学 口腔科学研究センター）

US9-2 歯学研究の多様性

平田 雅人（福岡歯科大学 口腔医学研究センター）

US9-3 自分を活かす研究力：個人と組織の狭間

山口 朗（東京歯科大学 口腔科学研究センター）

US10 アップデートシンポジウム 10

Update Symposium 10

オーガナイザー：小林 真之（日本大学 歯学部 薬理学講座）

座長：小林 真之（日本大学 歯学部 薬理学講座）

座長：若森 実（東北大学 大学院歯学研究科 口腔生物学講座 歯科薬理学分野）

テーマ 細胞内 Ca^{2+} による細胞機能の調節：パッチ・クランプ法から光学イメージング法によるアプローチまで

Ca^{2+} は、硬組織の主要な構成物質であると同時に、細胞内ではセカンド・メッセンジャーとして細胞機能を制御している。口腔顔面領域には多様な細胞が存在し、 Ca^{2+} はそれぞれの細胞において特有の制御機構に組み込まれて細胞機能の発現に不可欠な役割を担っている。この Ca^{2+} による細胞機能の制御について様々な角度からアプローチしている研究者による最新の知見を共有することで、新たな研究の展開を図る場になればと考え、本シンポジウムを企画した。

US10-1 蛍光イメージングによる Ca^{2+} シグナル解析とその応用

ー細胞レベルから個体レベルー

谷村 明彦（北海道医療大学 歯学部 薬理学分野）

US10-2 味覚受容体再構築系における Ca^{2+} イメージングを用いた受容体機能解析

實松 敬介，重村 憲徳（九州大学 大学院歯学研究院 口腔機能解析学分野）

US10-3 電位依存性カルシウムチャネルサブタイプによる島皮質抑制性神経回路の短期可塑性調節機構

山本 清文，小林 真之（日本大学 歯学部 薬理学講座）

US10-4 興奮性細胞から非興奮性細胞までの細胞機能を調節する電位依存性 Ca^{2+} チャネル

若森 実（東北大学 大学院歯学研究科 口腔生物学講座 歯科薬理学分野）

US10-5 カルシウムプローブ G-CaMP による *in vivo* 細胞機能イメージング

中井 淳一（東北大学 大学院歯学研究科 口腔機能形態学講座 口腔生理学分野）

US11 アップデートシンポジウム 11

Update Symposium 11

オーガナイザー：笹野 泰之（東北大学 大学院歯学研究科 顎口腔組織発生学分野）
座長：笹野 泰之（東北大学 大学院歯学研究科 顎口腔組織発生学分野）
座長：後藤 哲哉（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 歯科機能形態学分野）

テーマ オーラル・バイオロジーの老化研究への新たな挑戦

老化に伴う口腔機能の低下が認知機能に関連する事実は臨床的に知られている。一方、口腔機能を担う組織の老化に関する細胞組織生物学的な情報は乏しく、また、口腔組織の老化が疾病発症や認知機能に影響する生物学的背景も不明である。

本シンポジウムでは、口腔組織の老化に関する研究と、口腔の老化に関連する疾病の発症や認知機能の低下に関する研究を紹介していただき、最新の知見を共有したい。

US11-1 マウス歯周組織における老化関連細胞外マトリックス分解酵素の探索-トランスクリプトーム解析を用いたアプローチ

中村 恵（東北大学 大学院歯学研究科 顎口腔組織発生学分野）

US11-2 DNA メチル化異常と口腔粘膜の病的老化について

安彦 善裕（北海道医療大学 生体機能・病態学系 臨床口腔病理学講座）

US11-3 アルツハイマー病の進行に関わる三叉神経中脳路核の老化について

後藤 哲哉（鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 歯科機能形態学分野）

WS Webセミナー

Web Seminar

オーガナイザー：原田 英光（岩手医科大学 解剖学講座 発生生物再生医学分野）

座長：原田 英光（岩手医科大学 解剖学講座 発生生物再生医学分野）

座長：福本 敏（九州大学 大学院歯学研究院 小児口腔医学分野）

テーマ 高度石灰化を担う成熟期エナメル芽細胞の特性解明から低石灰化型エナメル質形成不全症を考える

低石灰化型エナメル質形成不全症は、脆弱なエナメル質を呈する疾患として知られている。エナメル質は、他の硬組織と異なり細胞外基質をほとんど含まない95%以上のアパタイトの結晶によって構成されている。この高度な石灰化はカルシウムとリンの輸送を担う成熟期エナメル芽細胞が、基質を分解・脱却することによって成し遂げているが、これらの詳細な機序や細胞特性については十分に理解されているとはいえない。

このセミナーでは、成熟期に焦点を当てたエナメル質石灰化に関わる新規分子メカニズムについて発表し、この疾患の発症機構について議論する場としたい。

WS-1 成熟期エナメル芽細胞の機能解析から低石灰化型エナメル質形成不全を考える～基礎と臨床研究の Translation ～

岡 暁子（福岡歯科大学 成長発達歯学講座 成育小児歯科学分野）

WS-2 ビタミンDとエナメル質低石灰化症発症との関連

中村 卓史（東北大学 大学院歯学研究科 口腔生物学講座 歯科薬理学分野）

WS-3 成熟期エナメル芽細胞のイオン輸送機構

進 正史（福岡歯科大学 細胞分子生物学講座 細胞生理学分野）

WS-4 成熟期エナメル芽細胞におけるプロトンポンプの新規機能

大津 圭史（岩手医科大学 解剖学講座 発生生物再生医学分野）

WS-5 成熟期エナメル芽細胞におけるGタンパク質共役型受容体の機能解析

千葉 雄太（東北大学 大学院歯学研究科 小児歯科学分野）

一般演題 (口演)

神経・筋

- 01-01 小児の睡眠周期に関連したリズム性咀嚼筋活動の発生様態**
○白石 優季^{1,2}, 山城 隆², 加藤 隆史¹
(¹阪大院歯 口腔生理, ²阪大院歯 矯正)
- 01-02 睡眠時ブラキシズムにおける睡眠時咬筋トーンズの定量的解析**
○豊田 理紗^{1,2}, 加藤 隆史¹
(¹阪大院歯 口腔生理, ²阪大院歯 義歯・高齢)
- 01-03 繰り返したレッドミル運動は社会的敗北ストレスによる顎顔面領域の侵害応答増大を抑制する**
○長谷川 真奈¹, 岡本 圭一郎², 藤井 規孝¹, 山村 健介²
(¹新潟大院歯 歯臨床教育, ²新潟大院歯 口腔生理)
- 01-04 ラットにおける閉口筋筋紡錘感覚の視床髄板内核群への投射**
○佐藤 文彦, 堤 友美, 古田 貴寛, 吉田 篤
(阪大院歯 口腔解剖 2)
- 01-05 ラットの体性感覚閾値低下を誘発する慢性間歇的低酸素の三叉神経系への影響**
○片桐 綾乃¹, 岸本 沙樹^{1,2}, 加藤 隆史¹
(¹阪大院歯 口腔生理, ²阪大院歯 麻酔)
- 01-06 レバー押しタスク学習ラット島皮質ニューロンにおける文脈依存的味覚応答**
○梶原 美絵^{1,2}, 小林 真之²
(¹日大 歯 麻酔, ²日大 歯 薬理)
- 01-07 中脳水道周囲灰白質腹外側部へ投射するニューロンの解剖学的特性**
○Kawasaki Shiori, 中谷 有香, 小林 真之
(日大 歯 薬理)
- 01-08 ラット島皮質 GABA 作動性抑制性シナプス伝達におけるニューロン依存的長期可塑性メカニズムの解明**
○千喜良 緑^{1,2}, 山本 清文², 小林 真之²
(¹日大 歯 麻酔, ²日大 歯 薬理)
- 01-09 咬合異常によるストレスは、レニンアンジオテンシン系を介し心機能に影響を及ぼす**
○伊藤 愛子¹, 大貫 芳樹², 梅木 大輔¹, 吹田 憲治², 石川 美紗緒³, 八木澤 由佳¹,
松尾 一郎⁴, 早川 佳男⁵, 友成 博¹, 奥村 敏²
(¹鶴大院歯 矯正, ²鶴大院歯 生理, ³鶴大院歯 解剖 I, ⁴鶴大院歯 歯周病, ⁵鶴大院歯 麻酔)
- 01-10 抗ヘルペス薬 (ピダラビン) は咬合異常に起因する心機能障害に対して心機能に影響を及ぼすことなく予防効果を示す**
○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, 松尾 一郎⁵, 清本 賢一⁵, 角田 通則⁵, 河原 博¹, 奥村 敏²
(¹鶴大院歯 麻酔, ²鶴大院歯 生理, ³鶴大院歯 解剖 I, ⁴鶴大院歯 矯正, ⁵鶴大院歯 歯周病)
- 01-11 *Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS の慢性投与下におけるβ - アドレナリン受容体シグナルを介した心機能低下に対する影響**
○松尾 一郎¹, 吹田 憲治², 早川 佳男³, 清本 賢一¹, 角田 通則¹, 伊藤 愛子⁴, 石川 美紗緒⁵, 大貫 芳樹², 五味 一博¹, 奥村 敏²
(¹鶴大院歯 歯周病, ²鶴大院歯 生理, ³鶴大院歯 麻酔, ⁴鶴大院歯 矯正, ⁵鶴大院歯 解剖 I)

微生物・免疫

- 02-01 *Porphyromonas gingivalis* の Fim 線毛の形成機構**
○庄子 幹郎, 中山 浩次, 内藤 真理子
(長大 院医歯薬 微生物)
- 02-02 クワ葉抽出物に含まれる天然物化合物の口腔微生物への抗菌性**
白井 尊久¹, ○佐藤 祐太郎², 石原 和幸³
(¹奥羽大 歯, ²関東労災病院 歯科口腔外科, ³東歯大 微生物)
- 02-03 飲酒を想定した中から高濃度エタノール環境下における *Streptococcus* 属によるアセトアルデヒド産生**
○互野 亮^{1,3}, 鷺尾 純平², 佐々木 啓一³, 高橋 信博²
(¹東北大 病院 顎顔面口腔再建治療部, ²東北大 院歯 口腔生化, ³東北大 院歯 口腔システム補綴)
- 02-04 *Candida albicans* の DMBT1 への結合機序の解明**
○瀬戸口 大介, 於保 孝彦
(鹿大 院医歯 予防歯)
- 02-05 肺および口腔上皮細胞における *Porphyromonas gingivalis* 由来の細胞外小胞の障害性**
○山口 真輝¹, 塩津 範子², 竹本 史子³, 福原 瑤子⁴, 池亀 美華⁴, 吉田 賀弥⁵, 上岡 寛³,
鳥井 康弘², 佐々木 朗¹, 岡村 裕彦⁴
(¹岡大 院医歯薬 口腔顎顔面外科, ²岡大 病院 総合歯科, ³岡大 院医歯薬 矯正, ⁴岡大 院医歯薬 口腔形態,
⁵徳大 院医歯薬 口腔保健教育)
- 02-06 細菌感染による母体の IL-17A が子の脳神経発達メカニズムに与える影響について**
○根来 (安松) 香奈江^{1,2}, 永尾 潤一^{1,3}, 有田 (森岡) 健一^{1,3}, 成田 由香^{1,3}, 田崎 園子¹,
城戸 寛史², 田中 芳彦^{1,3}
(¹福歯大 感染生物, ²福歯大 インプラント, ³福歯大 口腔医学研究セ)
- 02-07 緑膿菌における抗菌薬抵抗性関連遺伝子の探索**
○Pahlevi Muhammad, 村上 圭史, 藤猪 英樹
(徳大 院医歯薬 口腔微生物)
- 02-08 免疫チェックポイント分子 PD-L1 の歯肉過剰発現は、早期および慢性の歯肉炎症を抑制する**
○Wongtim Keeratika¹, 永井 重徳¹, 奥原 滋², 東 みゆき¹
(¹医科歯科大 院医歯 分子免疫, ²医科歯科大 院医歯 分子発生)
- 02-09 Binding and functional properties of VSIG4 (V-set and Ig domain containing 4) -Ig fusion protein**
○Widyagarini Amrita, 永井 重徳, 東 みゆき
(医科歯科大 院医歯 分子免疫)

歯

- 03-01 エナメル芽細胞と象牙芽細胞を蛍光標識できる Amelx-tdTomato ノックインマウス及び Dspp-GFP ノックインマウスの歯のマイクロ CT 解析**
○磯野 加奈, 山崎 英俊
(三重大 院医 幹細胞発生)
- 03-02 p130Cas のエナメル質形成過程における役割**
○井上 茜¹, 高 靖¹, 吉崎 恵悟², 進 正史³, 中富 千尋⁴, 中富 満城⁵, 岡部 幸司³, 大島 勇人⁶,
高橋 一郎², 自見 英治郎¹
(¹九大 院歯 口腔細胞工学, ²九大 院歯 矯正, ³福歯大 細胞生理, ⁴九歯大 生理, ⁵九歯大 解剖, ⁶新潟大 院医歯 硬組織形態)

03-03 Fam20C の象牙芽細胞特異的過剰発現は象牙質形成を抑制する
○浪花 耕平^{1,2}, 廣瀬 勝俊¹, 宇佐美 悠¹, 白銀 陽一郎¹, 奥村 将^{1,2}, 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)

03-04 モンゴル人における歯を用いた年齢推定法の試み
○Tsogtsaikhan Khongorzul^{1,2}, 波田野 悠夏¹, 吉田 貴恵¹, Bimedekhgui Ganzorig³,
Minjuur Tserenbat², Garidkhuu Ariuntuul^{2,4}, 小坂 萌¹, 鈴木 敏彦¹, 佐々木 啓一¹
(¹東北大 院歯 歯科法医情報, ²モンゴル国立医科大, ³モンゴル国立法医学研, ⁴国際医療福祉大 院医 公衆衛生)

03-05 半導体レーザーを用いた施術ファイバーチップ Initiation 効果を再考する (他の波長への応用の可能性)
○中島 京樹¹, 玉置 孝蔵², 上村 守³, 豊山 洋輔⁴, 前島 健吾⁵
(¹鶴大 歯 口内, ²(株) アバタイト, ³大歯大 歯 解剖, ⁴聖母歯科医院, ⁵前歯歯科医院)

骨代謝

04-01 抜歯窩治癒過程における M2 様マクロファージ浸潤と TGF-β分泌
○堀部 寛治¹, 原 弥勒力², 中村 浩彰¹
(¹松歯大 口腔解剖, ²松歯大病院 総合診断)

04-02 p53 発現抑制による骨組織修復の促進
○二宮 禎¹, 永島 利通², 中村 純基³, 大橋 晶子¹, 藤原 恭子¹, 高橋 富久¹
(¹日大 歯 解剖 I, ²日大 歯 口外・口腔外科, ³日大 歯 矯正)

04-03 副甲状腺ホルモン間歇投与による皮質骨多孔化の組織化学的検索
○阿部 未来^{1,3}, 山本 知真也², 本郷 裕美³, 網塚 憲生³, 長谷川 智香³
(¹北大 院歯 硬組織発生, ²自衛隊朝霞駐屯地 歯科, ³北大 院歯 硬組織発生)

04-04 歯髄幹細胞由来無血清培養上清を用いた変形性顎関節症の治療法開発
○加納 史也, 山本 朗仁
(徳大 院医歯薬 組織再生制御)

04-05 TAK1 は PP2A 阻害因子 CIP 2 A 発現を誘導し骨髄腫細胞の生存シグナルを増強する
○寺町 順平
(岡大 院医歯薬 口腔機能解剖)

04-06 S- アデノシルメチオニンはポリアミン合成経路を介して軟骨細胞の増殖および基質合成を促進する.
○青山 絵理子¹, 久保田 聡², 滝川 正春¹
(¹岡大 歯先端研セ, ²岡大 院医歯薬 口腔生化)

04-07 JNK 活性の減弱は正常な骨芽細胞分化を阻害し, 転写因子 Id4 を介してオステオポンチン高発現細胞を誘導する
○楠山 譲二¹, 成 昌奂², 大西 智和², 嶋 香織³, 仙波 伊知郎³, 松口 徹也²
(¹東北大 学際フ 新領域, ²鹿大 院医歯 口腔生化, ³鹿大 院医歯 口腔病理)

腫瘍・その他

05-01 舌癌における筋線維再生への High mobility group box 1 (HMGB1) の関与
○小笠原 悠大^{1,2}, 崎山 浩司¹, 小野澤 豪^{1,3}, 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 歯 口腔顎顔面外科2, ³明海大 歯 口腔顎顔面外科1)

05-02 筋ジストロフィーモデルマウスの筋再生と High mobility group box 1 (HMGB1) との関係
○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)

- 05-03 CCN2 の核移行による線維化の制御**
 ○西田 崇^{1,2}, 滝川 正春², 久保田 聡¹
 (1岡大 院医歯薬 口腔生化, 2岡大 歯先端研セ)
- 05-04 胆道閉鎖症患児由来乳歯幹細胞の細胞移植治療効果を制御する機序の解析**
 ○園田 聡一朗, 村田 早羅, 加藤 大樹, 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)
- 05-05 「演題取り下げ」**
- 05-06 アレンドロネートによる caspase-11 発現増強**
 ○玉井 利代子, 眞島 いづみ, 清浦 有祐
 (奥羽大 歯 口腔感染免疫)
- 05-07 血管発生におけるグリシンの用量依存的二相性効果**
 ○田村-辻 潔美, 佐藤 真理, 田村 正人
 (北大 院歯 口腔分子生化)
- 05-08 iGONAD ゲノム編集を用いたスモールタグノックインマウス作製による脳・顔面発生**
 解析：標的特異抗体の不必要の方法
 ○青戸 一司
 (浜松医大 医化学)

唾液腺

- 06-01 Cdc42 は小胞輸送を制御することにより腺腔側膜形成を促進する**
 ○設楽 彰子, 大野 雄太, 長瀬 春奈, 柏俣 正典
 (朝日大 歯 薬理)
- 06-02 唾液腺腺房細胞における分泌タンパク質の調節性および構成性分泌経路への選別機構**
 ○吉垣 純子, 横山 愛, 加藤 治
 (日大 松戸歯 生理)
- 06-03 「演題取り下げ」**
- 06-04 明暗・恒暗飼育ラット顎下腺における Aqp5 および Ano1 サーカディアンリズム変動**
 ○佐藤 涼一, 杉原 直樹
 (東歯大 衛生)
- 06-05 ヒト唾液腺オルガノイドの唾液腺機能障害研究への有用性**
 ○吉本 尚平¹, 安西 寛真^{1,2}, 岡村 和彦¹, 橋本 修一¹
 (1福歯大 病態構造, 2福歯大 口外)

一般演題 (ポスター)

骨・軟骨・骨代謝

- P1-01 胎内栄養環境に基づく糖脂質代謝制御とオステオカルシンの関与**
○安河内 (川久保) 友世¹, 溝上 颯子¹, 木村 宗惟^{1,2}, 中村 誠司², 自見 英治郎¹, 平田 雅人³
(¹九大 院歯 OBT研究セ, ²九大 院歯 顎顔面腫瘍制御, ³福歯大 口腔医学研究セ)
- P1-02 メッセル軟骨前方部に形成される膜性骨の形態学的特徴と役割**
○井上 貴一朗¹, 丸岡 春日², 長谷川 智香¹, 山本 恒之¹, 八若 保孝³, 網塚 憲生¹
(¹北大 院歯 硬組織発生, ²北大 院歯 矯正, ³北大 院歯 小児障害者)
- P1-03 G9a は Runx2 の機能調節を介してマウス頭蓋の骨形成を制御する**
○出野 尚¹, 小松 浩一郎¹, 中島 和久¹, 新井 嘉則², 二藤 彰¹
(¹鶴大 歯 薬理, ²日大 歯 放射線)
- P1-04 転写因子 TBX1 は頭蓋底軟骨結合発生において RUNX2 下流シグナルを調節する**
○船戸 紀子^{1,2}, 柴田 俊一³
(¹医科歯科大 院歯 歯 シグナル遺伝子制御, ²医科歯科大 リサーチコア, ³医科歯科大 院歯 顎顔面解剖)
- P1-05 軟骨細胞におけるレチノイン酸シグナルの機能解析**
○内部 健太, 寺山 隆司
(広大 院医系科学 顎顔面解剖)
- P1-06 BMP-9 骨分化誘導シグナル伝達における転写因子 Egr-1 の重要な役割**
○千葉 紀香, 成 昌奂, 大西 智和, 松口 徹也
(鹿大 院歯 口腔生化)
- P1-07 低酸素誘導因子 Hif-1 α 蛋白は骨芽細胞の BMP9 刺激により早期に誘導され, 解糖系酵素 PDK1 の発現を介して骨芽細胞分化に重要な役割を果たす**
○松口 徹也¹, 千葉 紀香¹, 成 昌奂^{1,2}, 大西 智和¹
(¹鹿大 院歯 口腔生化, ²鹿大 院歯 顎顔面外科)
- P1-08 Annexin A5 欠損マウスでは腱・靭帯附着部 (enthesis) の石灰化が促進される**
○小松 浩一郎¹, 出野 尚¹, 新井 嘉則², 和田 悟史³, 中島 和久¹, 山下 照仁⁴, 二藤 彰¹
(¹鶴大 歯 薬理, ²日大 歯, ³鶴大 歯 矯正, ⁴松歯大 総歯医研 硬組織疾患制御再建)
- P1-09 卵巣摘出マウスの長骨骨幹端修復過程に対するエストロゲン短期投与の効果**
○井上 知, 藤川 芳織, 福島 美和子, 中村 雅典
(昭大 歯 口腔解剖)
- P1-10 骨芽細胞特異的な骨改造制御膜表面分子の同定と機能解析**
○日浦 秀暢^{1,2}, 久本 由香里², 上原 範久², 張 旌旗², 顧 炯炎², 山座 孝義², 久木田 明子³, 高橋 一郎¹, 久木田 敏夫²
(¹九大 院歯 矯正, ²九大 院歯 矯正, ³佐賀大 医 微生物)
- P1-11 プロポフォールの継続刺激は RAW264.7 細胞の破骨細胞への分化と骨吸収関連因子の発現を抑制する**
○里見 ひとみ^{1,2,3}, 岡 俊一^{1,3}, 田中 秀樹^{2,4}, 中井 久美子^{2,4}, 川戸 貴行^{2,4}
(¹日大 歯 麻酔, ²日大 歯 衛生, ³日大 歯 総歯研 生体防御, ⁴日大 歯 総歯研 機能形態)
- P1-12 骨吸収および炎症性骨破壊における破骨細胞形成と細胞膜ナノチューブの関与**
○張 旌旗¹, 顧 炯炎¹, 久本 由香里¹, 久木田 明子², 張 曉旭³, 上原 範久¹, 日浦 秀暢^{1,4}, 山座 孝義¹, 久木田 敏夫¹
(¹九大 院歯 分子口腔解剖, ²佐賀大 医 微生物, ³九大 院歯 インプラント, ⁴九大 院歯 矯正)

P1-13 反射電子像を利用した走査型電子顕微鏡による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)

P1-14 破骨細胞機能制御に関連する新規破骨細胞特異的膜表面抗原
○顧 炯炎¹, 久本 由香里¹, 寺町 順平², 日浦 秀暢^{1,3}, 張 旌旗¹, 張 曉旭⁴, 上原 範久¹,
山座 孝義¹, 久木田 明子⁵, 久木田 敏夫¹
(¹九大 院歯 分子口腔解剖, ²岡大 院医歯薬 口腔機能解剖, ³九大 院歯 矯正, ⁴九大 院歯 インプラント,
⁵佐賀大 医 微生物)

免疫

P1-15 抗原反復塗布により舌下粘膜に現れる CD206 陽性マクロファージの免疫寛容特性
○永井 重徳, ヤン ユエ, 東 みゆき
(医科歯科大 院歯 分子免疫)

P1-16 歯周炎における歯周病原細菌 *Fusobacterium nucleatum* および *Porphyromonas gingivalis* の混合投与の影響
○戸田 みゆき¹, 河野 哲朗², 小林 良喜³, 渡辺 新², 玉村 亮², 落合 智子³, 岡田 裕之²
(¹日大 院松戸歯, ²日大 松戸歯 組織, ³日大 松戸歯 感染免疫)

P1-17 抗菌ペプチド LL-37 は歯周病関連細菌由来 DNA と複合体を形成し破骨細胞誘導活性を発揮する
○猪俣 恵, 引頭 毅
(朝日大 歯 口腔微生物)

P1-18 メチル化阻害剤による口腔扁平上皮癌細胞の増殖抑制作用
○牛尾 亮介^{1,2}, 廣井 美紀¹, 嶋田 淳², 大森 喜弘¹
(¹明海大 歯 微生物, ²明海大 歯 口腔顎顔面外科1)

P1-19 Th17 細胞を介した免疫応答による口腔カンジダ症の病態制御機構の解明
○田崎 園子^{1,2}, 有田 (森岡) 健一^{2,3}, 永尾 潤一^{2,3}, 成田 由香^{2,3}, 根来 (安松) 香奈江²,
小島 寛¹, 田中 芳彦^{2,3}
(¹福歯大 障害歯, ²福歯大 感染生物, ³福歯大 口腔医学研究セ)

P1-20 シェーグレン症候群モデルマウスにおける肺病変の解析
○佐藤 真美, 常松 貴明, 石丸 直澄
(徳大 院医歯薬 口腔分子病態)

P1-21 NOD マウスにおける唾液腺のリンパ濾胞形成に及ぼす MyD88 の役割について
○森 大気, 片岡 嗣雄, 引頭 毅
(朝日大 歯 口腔微生物)

P1-22 歯周病原細菌の抗原性に着目した歯周病の病態形成機構の解明
○永尾 潤一^{1,2}, 成田 由香^{1,2}, 有田 (森岡) 健一^{1,2}, 根来 (安松) 香奈江¹, 田崎 園子¹,
田中 芳彦^{1,2}
(¹福歯大 感染生物, ²福歯大 口腔医学研究セ)

P1-23 マイコプラズマ由来リポタンパク質・リポペプチドによる NLRP3 インフラマソーム活性化における TLR2 の役割
○佐伯 歩¹, 引頭 毅², 長谷部 晃¹, 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)

P1-24 腸管を起点とした口腔免疫機能を活性化させる液性因子の探索
○小林 良喜, 瀧澤 智美, 落合 智子
(日大 松戸歯 感染免疫)

- P1-25** *Porphyromonas gingivalis* LPS が誘発する糖尿病性腎症における腎臓の生理活性分子の発現に関する免疫組織化学的研究
○Kajiwara Koichiro¹, 藤田 隆寛¹, 沢 禎彦²
(¹福歯大 矯正, ²岡大 院医歯薬 口腔機能解剖)
- P1-26** 脂肪細胞の血管新生因子発現に及ぼす炎症性サイトカインの影響
○中井 久美子¹, 田中 秀樹^{1,2}, 川戸 貴行^{1,2}
(¹日大 歯 衛生, ²日大 歯 総歯研 機能形態)
- P1-27** *P. gingivalis* 由来 lipopolysaccharide によるヒト間葉系幹細胞における骨芽細胞分化抑制効果の発現機構の解明
○青木 貴晃^{1,2}, 横田 聖司¹, 帖佐 直幸¹, 加茂 政晴¹, 野田 守², 石崎 明¹
(¹岩医大 歯 生化, ²岩医大 歯 う蝕)
- P1-28** *P. gingivalis* ジンジパインによる COX-2 発現と細胞外カルシウム流入の分子機序
○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 微生物)
- P1-29** 血漿と赤血球におけるテトラヒドロピオプテリンとジヒドロピオプテリンの濃度変化についての研究
○大橋 晶子, 高橋 富久
(日大 歯 解剖 I)
- P1-30** 口腔粘膜疾患の新規動物モデルの開発
○竹内 麗理¹, 松本 裕子², 平塚 浩一¹
(¹日大 松戸歯 生化, ²日大 松戸歯 薬理)
- P1-31** ミトコンドリア蛋白のアスパラギン残基脱アミド化による肺胞上皮細胞に及ぼす効果
○小笠原 正人¹, 衣斐 美歩², 入江 太朗²
(¹岩医大 歯 薬理, ²岩医大 歯 病理)
- 腫瘍**
- P1-32** Netrin-1 は BMP-Smad シグナルとクロストークし悪性黒色腫の移動と浸潤を亢進する
○後藤 晶乃, Addison William, 水田 奏, 松原 琢磨, 古株 彰一郎
(九歯大 分子情報生化)
- P1-33** HER2 過剰発現乳癌におけるタンパク小分子 (Affibody) を用いた近赤外光免疫療法
○山口 晴香, 森田 貴雄
(日歯大 新潟生命歯 生化)
- P1-34** ミトコンドリアの機能不全は過酸化水素取り込みを制御するアクアポリン 3, 5, 8 の発現を亢進させ過酸化水素処理によるフェロトーシスを誘導する
○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 応用薬理, ²鹿大 院医歯 歯科保存)
- P1-35** Plectin は悪性黒色腫の増殖, 移動, 接着を制御する
○Mizuta Kana, 松原 琢磨, 後藤 晶乃, Addison William, 古株 彰一郎
(九歯大 分子情報生化)
- P1-36** 口腔がん中存在する高内皮細静脈の臨床的意義の検討
○松田 彩¹, 新山 宗^{1,2}, 間石 奈湖¹, 東野 史裕¹, 樋田 京子¹
(¹北大 院歯 血管生物分子病理, ²北海道がんセ 口腔腫瘍外科)

- P1-37 癌組織における免疫抑制環境の形成におよぼすミダゾラムの影響**
 ○神谷 真子¹, 松並 晃弘^{2,3}, 安藤 恵³, 上野 恭平³, 梅村 直己³, 川木 晴美³, 高山 英次³, 村松 泰徳², 智原 栄一⁴, 近藤 信夫³
 (朝日大 経営 化学, ²朝日大 歯 口外, ³朝日大 歯 口腔生化, ⁴朝日大 歯 外科)
- P1-38 口腔粘膜病変における S100a8, S100a9 の発現解析**
 ○中尾 寿奈, 江原 道子, 落合 隆永, 松岡 太相, 永山 元彦
 (朝日大 歯 口腔病理)
- P1-39 頭頸部扁平上皮癌特異的癌関連遺伝子 DKK3 の機能ドメイン同定**
 ○片瀬 直樹, 藤田 修一
 (長大 院医歯薬 口腔病理)
- P1-40 腫瘍微小環境における間質細胞の免疫抑制作用に対するブラジル産プロポリス (BP) の作用**
 ○安藤 恵¹, 松並 晃弘², 神谷 真子³, 池野 久美子⁴, 上野 恭平¹, 梅村 直己¹, 川木 晴美¹, 高山 英次¹, 中村 源次郎⁴, 近藤 信夫¹
 (朝日大 歯 口腔生化, ²朝日大 歯 口外, ³朝日大 経営 化学, ⁴(株)秋田屋本店 研究開発部)
- P1-41 ブラジル産プロポリス (BP) によるマウス活性化 T リンパ球および口腔扁平上皮癌細胞 Sq-1979 の免疫制御因子の調節**
 ○松並 晃弘¹, 神谷 真子³, 安藤 恵², 池野 久美子⁴, 梅村 直己², 川木 晴美², 高山 英次², 村松 泰徳¹, 中村 源次郎⁴, 近藤 信夫²
 (朝日大 歯 口外, ²朝日大 歯 口腔生化, ³朝日大 経営 化学, ⁴(株)秋田屋本店 研究開発部)
- P1-42 口腔扁平上皮癌における BP180 の発現制御機構**
 ○安河内 篤^{1,2}, 安河内 (川久保) 友世³, 中村 誠司¹
 (朝日大 院歯 顎顔面腫瘍制御, ²あつし歯科医院, ³九大 院歯 OBT研究セ)
- P1-43 口腔粘膜外傷モデルマウスにおけるラムシルマブの治癒遅延効果**
 ○山田 美喜¹, 飯島 洋介¹, 仲山 奈見¹, 日野 峻輔¹, 金子 貴広¹, 佐野 元彦², 坂上 宏³, 堀江 憲夫¹
 (埼玉医大 総医セ 歯科口腔外科, ²星薬大 薬学教育研究セ 実務教育研, ³明海大 歯科医学総合研)
- P1-44 EBV 関連悪性リンパ腫モデルマウスの作製 - 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
 (日大 歯 口外・口腔外科, ²日大 歯 細菌)

解剖

- P2-01 歯科医学への人工知能の応用**
 ○五十嵐 由里子¹, 近藤 信太郎¹, 金子 美泉², 内木場 文男²
 (日大 松戸歯 解剖, ²日大 理工 精密機械)
- P2-02 「演題取り下げ」**
- P2-03 性染色体異常の形態学的変動から推定した上顎大白歯の歯冠形成について**
 ○中山 光子¹, 松野 昌展², 宇都宮 忠彦¹, 久山 佳代¹
 (日大 松戸歯 病理, ²日大 松戸歯 解剖)
- P2-04 多血小板フィブリン適応中の組織再生プロセス**
 ○劉 宇豪, 東 雅啓, 松尾 雅斗
 (神歯大 院歯 口腔科学)

P2-05 マウス骨格筋由来筋芽細胞 (C2C12) とマウス胎子由来線維芽細胞 (NIH3T3) を用いた三次元腱分化誘導モデル作成の検討
○内藤 哲^{1,4}, 廣内 英智¹, 山本 将仁^{1,4}, 松永 智^{1,4}, 四ツ谷 護^{2,4}, 佐藤 正樹^{3,4}, 阿部 伸一^{1,4}
(¹東歯大 解剖, ²東歯大 クラウン補綴, ³東歯大 生物, ⁴東歯大 研究プランディング事業)

P2-06 「演題取り下げ」

P2-07 ヒト顔面部位別 皮下組織構造の組織学的観察
天野 カオリ¹, 稲葉 啓太郎¹, 日高 恒輝², ○松尾 雅斗¹
(¹神歯大 院歯 口腔科学, ²神歯大 院歯 口腔統合医療)

P2-08 細胞底面に着目した癌細胞排除機構の研究
○北河 憲雄^{1,2}
(¹福歯大 生体構造, ²福歯大 口腔医学研究セ 病態系PF)

P2-09 ヒト中頸神経節の交感神経節後ニューロンにおける神経伝達物質合成酵素及び神経ペプチドの分布
○佐藤 匡, 矢島 健大, 市川 博之
(東北大 院歯 口腔器官解剖)

神経

P2-10 「演題取り下げ」

P2-11 脚橋被蓋核刺激による嚥下反射の減弱
○佐藤 義英
(日歯大 新潟生命歯 生理)

P2-12 ラット嚥下反射に及ぼすオレキシン A とグルカゴン様ペプチド 1 の相互抑制作用
○小橋 基, 美藤 純弘, 吉田 竜介
(岡大 院医歯薬 口腔生理)

P2-13 3xTg-AD マウスを用いた神経細胞におけるアミロイドβの局在と加齢変化について
○園田 怜美^{1,2}, 倉本 恵梨子², 後藤 哲哉²
(¹鹿大 院医歯 歯周病, ²鹿大 院医歯 機能形態)

P2-14 発生工学的トレーシングを基盤とした橋結合腕傍核の苦味経路ニューロンの機能同定
○杉田 誠
(広大 院医歯薬保 口腔生理)

P2-15 マウス島皮質シナプス長期増強におけるニコチンおよびドーパミン受容体の役割
○豊田 博紀, 佐藤 元, 加藤 隆史
(阪大 院歯 口腔生理)

P2-16 運動野から感覚野への皮質内軸索投射を形態学的に解析する
○古田 貴寛, 吉田 篤
(阪大 院歯 口腔解剖 2)

P2-17 ビスフェノール A の出生前曝露は捕食者臭ストレスへの慣れを誘発する
○Fujimoto Tetsuya
(大歯大 歯 生理)

P2-18 骨基質タンパク質オステオカルシンが PC12 細胞に及ぼす影響
○安藤 瑛香^{1,2}, 東 泉², 溝上 颯子³, 渡邊 誠之¹, 平田 雅人⁴, 竹内 弘²
(¹九歯大 侵襲制御, ²九歯大 口腔応用薬理, ³九大 院歯 OBT研究セ, ⁴福歯大 口腔医学研究セ)

- P2-19 神経障害性疼痛に対するアデノシン A₃ レセプターアゴニストの作用機序**
○寺山 隆司, 内部 健太
(広大院医系科学 顎顔面解剖)
- P2-20 抗酸化剤のボルテゾミブ誘発性神経障害保護効果**
○飯島 洋介¹, 天野 滋², 坂東 健二郎³, 佐野 元彦⁴, 仲山 奈見¹, 山田 美喜¹, 日野 峻輔¹,
金子 貴広¹, 堀江 憲夫¹, 坂上 宏⁵
(¹埼玉医大 総医セ 歯科口腔外科, ²明海大 歯 微生物, ³明海大 歯 生化, ⁴星薬大 薬学教育研究セ 実務教育研,
⁵明海大 歯科医学総合研)
- P2-21 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甘味応答増強効果**
○岩田 周介^{1,2}, 井上 真由子³, 吉田 竜介⁴, 重村 憲徳¹, 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)
- P2-22 ラット感覚神経節における TRPM3 の分布**
○矢島 健大, 佐藤 匡, 島崎 健一郎, 市川 博之
(東北大 院歯 口腔器官解剖)
- P2-23 3種増粘剤に対するラットのニビン選択実験**
○中村 文彦, 安尾 敏明, 諏訪部 武, 裕 哲崇
(朝日大 歯 口腔生理)
- P2-24 抗不整脈薬フレカイニドによる酸味感受性の増強**
○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^{1,3}
(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)
- P2-25 ラットの味覚神経節細胞における栄養素感知のメカニズムについて**
○諏訪部 武, 安尾 敏明, 裕 哲崇
(朝日大 歯 口腔生理)
- P2-26 三環系抗うつ薬イミプラミンの歯周病原細菌由来 LPS が誘導するミクログリアによる神経障害抑制効果**
○山脇 洋輔¹, 兼松 隆²
(¹第一薬大 薬 薬物治療, ²九大 院歯 口腔機能分子)

唾液腺

- P2-27 βアレスチンシグナルを介したムスカリン受容体刺激による遺伝子発現の亢進**
○森田 貴雄¹, 根津 顕弘², 佐藤 律子^{1,3}, 谷村 明彦²
(¹日歯大 新潟生命歯 生化, ²北医療大 歯 薬理, ³日歯大 新潟短大 歯科衛生)
- P2-28 脂肪添加含量の違いとフラクトオリゴ糖添加が唾液中 IgA 分泌速度に与える効果**
○山本 裕子¹, 猿田 樹理², 坂口 和歌子², 東 雅啓², 槻木 恵一²
(¹神歯大 短大 歯科衛生, ²神歯大 院歯 口腔科学)
- P2-29 Intravital imaging と遺伝子解析による唾液腺における代償性機能亢進の分子機構の解明**
○根津 顕弘¹, 高橋 茂², 森田 貴雄³, 谷村 明彦¹
(¹北医療大 歯 薬理, ²北大 院歯 口腔機能解剖, ³日歯大 新潟生命歯 生化)
- P2-30 シェーグレン症候群モデルマウスと若年および高齢マウスにおける S100 タンパク質の発現比較**
○佐藤 律子¹, 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 新潟生命歯 生化, ³日歯大 新潟生命歯 補綴, ⁴日歯大 新潟生命歯 小児歯)

- P2-31 Sjögren 症候群における臨床データと網羅的免疫組織染色結果との比較**
○大野 淳也, 佐野 拓人, 岡田 康男
(日歯大 新潟生命歯 病理)
- P2-32 マウス唾液腺原基・脾細胞共培養系を用いた ex vivo シェーグレン症候群モデルにおけるヒト歯髄幹細胞由来細胞外小胞の効果**
○小間 義朗, 酒井 陽, Dong Jiao, 丸山 裕, Liu Kehong, 渡邊 純奈, 日比 英晴
(名大 院医 顎顔面外科)
- P2-33 マウスの顎下線と唾液での心理的ストレスによる炎症性サイトカインの変化**
○Paudel Durga¹, 森川 哲郎¹, 吉田 光希¹, 安彦 善裕¹
(¹北医療大 歯 臨床口腔病理, ²北医療大 歯 保健衛生)
- P2-34 唾液エクソソームにおける N- 結合型糖タンパク質の糖鎖解析**
○今井 あかね^{1,2}, 辻村 麻衣子³, 岡 俊哉⁴, 斎藤 英一⁵
(¹日歯大 新潟短大 歯科衛生, ²日歯大 新潟生命歯 生化, ³日歯大 新潟生命歯 解剖 2, ⁴日歯大 新潟生命歯 生物, ⁵新潟工大 院工 生物機能化学)
- P2-35 ラット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, ラマダニ ラトナ, 三戸 浩平, 石川 里奈, 石井 久淑
(北医療大 歯 生理)
- P2-36 東京歯科大学における唾液腺腫瘍の臨床病理統計**
○中條 貴俊, 明石 良彦, 山田 玲菜, 山本 圭, 中島 啓, 國分 克寿, 松坂 賢一
(東歯大 病理)
- P2-37 Notch シグナルは唾液腺筋上皮細胞の分化制御に関与する**
○安原 理佳, 田中 準一, 美島 健二
(昭大 歯 口腔病理)
- P2-38 TAS2R8 発現における亜鉛の役割**
○小島 剛志¹, 金子 良平¹, 前田 豊信², 鈴木 厚子², 山森 徹雄¹, 加藤 靖正²
(¹奥羽大 歯 補綴, ²奥羽大 歯 口腔生化)

シグナル伝達

- P3-01 Mitf 遺伝子変異が咬筋における組織リモデリングに及ぼす影響**
○成山 明具美¹, 大貫 芳樹², 吹田 憲治², 伊藤 愛子³, 石川 美紗緒⁴, 松尾 一郎⁵, 早川 佳男⁶, 梅木 大輔³, 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, ⁵鶴大 歯 歯周病, ⁶鶴大 歯 麻酔)
- P3-02 TNF- α 刺激ヒト歯肉線維芽細胞の MMP-1 と MMP-3 分泌におけるシグナル伝達に対する S-PRG フィラー溶出液の影響**
○井上 博, 毛 丹, 合田 征司
(大歯大 歯 生理)
- P3-03 歯周病原性細菌由来 LPS に誘導される炎症応答に対する β -glucan の作用**
○Thongsiri Chuencheewit¹, 西原 達次², 有吉 渉²
(¹九歯大 歯周, ²九歯大 感染分子生物)
- P3-04 高度肥満症患者の空腸における味覚シグナル分子の伝令 RNA 発現レベル**
○安尾 敏明^{1,2}, 畠 哲崇¹, 二ノ宮 裕三^{2,3}
(¹朝日大 歯 口腔生理, ²モネル化学感覚研, ³九大 味覚・嗅覚センサ研究開発セ)

P3-05 脂肪細胞表面受容体 GPRC6A の食事誘発性肥満における役割

○溝上 顕子¹, 大谷 崇仁², 松田 美穂³, 安河内 (川久保) 友世¹, 竹内 弘⁴, 自見 英治郎^{1,3},
平田 雅人⁵

(¹九大 院歯 OBT研究セ, ²福歯大 機能構造, ³九大 院歯 口腔細胞工学, ⁴九歯大 口腔応用薬理, ⁵福歯大 口腔医学研究セ)

P3-06 「演題取り下げ」

P3-07 「演題取り下げ」

歯・歯周組織・発生

P3-08 CDK4/CyclinD1 は唾液腺の分枝形態形成を制御する

○五條 菜央¹, 井階 一樹², 皆木 瞳^{4,5}, 酒井 学³, 阪井 丘芳¹

(¹阪大 院歯 顎治, ²阪大 院歯 顎治 特任研究員, ³阪大 歯病院 検査部, ⁴岡大 院歯歯薬 細胞組織, ⁵日本学術振興会)

P3-09 ヒト骨髄由来幹細胞に対するブラジル産グリーンプロポリスのエタノール抽出液の作用

○新谷 耕平¹, 川木 晴美², 上野 恭平², 鶴田 はねみ³, 神谷 真子⁴, 池野 久美子⁵,
中村 源次郎⁵, 玉置 幸道¹, 堀田 正人⁶, 近藤 信夫²

(¹朝日大 歯 理工, ²朝日大 歯 口腔生化, ³朝日大 歯 保存, ⁴朝日大 経営 化学, ⁵(株) 秋田屋本店, ⁶朝日大)

P3-10 イオン交換材を用いた改変型 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, 新谷 耕平³, 梅村 直己¹, 神谷 真子⁴, 高山 英次¹,
堀田 正人⁵, 二階堂 徹², 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 歯 理工, ⁴朝日大 経営 化学, ⁵朝日大)

P3-11 骨ハイドロキシアパタイト結晶とセリア系ジルコニアがもたらすナノスケールオッセオインテグレーション

○斉藤 まり, 山本 竜司, 山越 康雄

(鶴大 歯 生化学)

P3-12 「演題取り下げ」

P3-13 顕微フーリエ変換赤外分光法によるヒトエナメル質結晶脱灰時の経時的変化

○渡辺 新¹, 河野 哲朗¹, 戸田 みゆき², 玉村 亮¹, 寒河江 登志朗¹, 岡田 裕之¹

(¹日大 松戸歯 組織, ²日大 院松戸歯)

P3-14 マウス歯髄組織の発生・再生治療過程におけるコンドロイチン硫酸の機能発現

○依田 浩子, 大島 勇人

(新潟大 院歯歯 硬組織形態)

P3-15 成熟期エナメル芽細胞における LPA シグナルの機能的役割の解明

○稲葉 陽^{1,2}, 大津 圭史¹, 池崎 晶二郎¹, 荒井 春乃^{1,2}, 森川 和政², 原田 英光¹

(¹岩医大 院歯 口腔組織, ²岩医大 院歯 小児・障害者)

P3-16 Shikonin は CD44 存在下で AKT-mTOR を介して歯髄幹細胞を象牙芽細胞へと分化誘導する

梶浦 久仁洋¹, ○梅村 直己², 上野 恭平², 川木 晴美², 高山 英次², 河野 哲¹, 近藤 信夫²

(¹朝日大 歯 歯内療法, ²朝日大 歯 口腔生化)

P3-17 多根歯形成過程における Hertwig 上皮鞘の三次元的成長に関する研究

○菊池 布恵¹, 北村 啓¹, 笠原 典夫¹, 小川 雄大¹, 石川 昂², 山本 将仁³, 阿部 伸一³, 山本 仁¹

(¹東歯大 組織発生, ²東歯大 法歯人類, ³東歯大 解剖)

- P3-18 歯の支持様式における槽生の検討：モササウルス類化石を例にして**
 ○三島 弘幸¹, 千葉 敏江², 見明 康雄³
 (1鶴大 歯 歯科理工, 2鶴大 歯 電顕室, 3鶴大 歯 解剖 I)
- P3-19 炭酸アパタイト系人工骨移植後の歯槽骨形成と微小循環**
 ○松尾 まりあ, 東 雅啓, 松尾 雅斗
 (神歯大 院歯 口腔科学)
- P3-20 歯根嚢胞発症モデルマウスの作製**
 ○池崎 晶二郎¹, 熊上(坂野) 深香¹, 東根 まりい², 大津 圭史¹, 原田 英光¹
 (1岩医大 歯 発生生物, 2岩医大 歯 口外)
- P3-21 アーティチョーク由来のシナロピクリンは *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を抑制する**
 ○横江 将¹, 渡辺 典久¹, 佐藤 秀一¹, 今井 健一²
 (1日大 歯 保存Ⅲ, 2日大 歯 細菌)
- P3-22 持続的伸展刺激負荷は歯根膜線維芽細胞が産生するエクソソーム中 miRNA 構成を変えて骨芽細胞分化を促進する**
 ○和田 悟史, 菅崎 弘幸, 友成 博
 (鶴大 歯 矯正)
- P3-23 歯の萌出および接合上皮形成過程における細胞動態および組織学的変化についての解析**
 ○藤川 芳織, 福島 美和子, 中村 雅典
 (昭大 歯 口腔解剖)
- P3-24 歯科矯正力により歯根膜と歯髄で生じる酸化ストレスは侵害受容性神経線維上の TRPA1 の活性化または機械感受性感作を介して疼痛を誘発する**
 ○森井 葵^{1,2}, 宮村 侑一^{1,3}, 左合 - 伊藤 美紗², 浪花 真子¹, 人見 涼露⁴, 郡司掛 香織², 黒石 加代子², 川元 龍夫², 小野 堅太郎¹
 (1九歯大 顎口腔機能矯正, 2九歯大 生理, 3九歯大 放射線, 4日大 歯 生理)
- P3-25 ラット上顎歯肉における骨粗鬆症及びビスホスホネート製剤の形態学的影響**
 ○芳本 岳, 川島 渉, 上村 守
 (大歯大 歯 解剖)
- P3-26 根尖性歯周炎を誘発したラット臼歯歯根膜ルフィニ終末の形態学的変化**
 ○丹沢 聖子¹, 北村 啓², 石川 昂³, 田宮 資己¹, 古澤 成博¹, 山本 仁²
 (1東歯大 歯内, 2東歯大 組織発生, 3東歯大 法歯人類)

微生物

- P3-27 唾液中タンパク質の働きーラクトフェリン, シスタチン S の抗真菌作用に着目してー**
 ○福井 佳代子¹, 原 基¹, 二宮 一智^{1,2}, 桑島 治博¹, 今井 あかね^{3,4}, 仲村 健二郎¹
 (1日歯大 新潟生命歯 薬理, 2日歯大 新潟病院 総合診療科, 3日歯大 新潟生命歯 生化, 4日歯大 新潟短大 歯科衛生)
- P3-28 *Candida albicans* 経口摂取が腸内細菌叢に及ぼす影響**
 ○長谷部 晃, 佐伯 歩, 柴田 健一郎
 (北大 院歯 口腔分子微生物)

- P3-29 口腔粘膜炎を併発した口腔カンジダ症モデルマウスにおける真菌血症の予防法に関する研究**
 ○二宮 一智¹, 片桐 浩樹^{2,3}, 原 基¹, 福井 佳代子¹, 桑島 治博¹, 羽下一辻村 麻衣子^{2,3}, 中原 賢³, 仲村 健二郎¹
 (¹日歯大 新潟生命歯 薬理, ²日歯大 新潟生命歯 解剖 2, ³日歯大 新潟生命歯 先端研セ)
- P3-30 健常学生の唾液由来における *Streptococcus sobrinus* の分布状況**
 ○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)
- P3-31 電解還元性イオン水 (s-100) の殺菌効果と細胞毒性**
 ○葛城 啓彰
 (日歯大 新潟生命歯 微生物)
- P3-32 羅漢果抽出液の口腔微生物に対する抗菌効果の基礎的研究**
 ○齋藤 真規, 桑原 紀子, 瀧澤 智美, 落合 智子
 (日大 松戸歯 感染免疫)
- P3-33 *Prevotella nigrescens* の線毛の精製ならびに解析**
 ○藤田 真理, 宮川 博史, 永野 恵司
 (北医療大 歯 微生物)
- P3-34 口腔レンサ球菌の感染に関わる病原因子の多様性の解明**
 ○石川 結子, 才木 桂太郎, 田代 有美子, 山中 幸, 林田 尚斗, 高橋 幸裕
 (日歯大 生命歯 微生物)
- P3-35 宿主由来エラスターゼは HLA クラス II 発現を抑制する**
 ○土門 久哲^{1,2}, 前川 知樹^{1,2}, 寺尾 豊^{1,2}
 (¹新潟大 院医歯 微生物, ²新潟大 院医歯 高度口腔機能教研セ)
- P3-36 *Citrobacter koseri* は ATP 産生を介して樹状細胞に IL-33 を誘導する**
 ○片岡 嗣雄, 森 大気, 引頭 毅
 (朝日大 歯 口腔微生物)
- P3-37 血清型 M49 型 *Streptococcus pyogenes* の CvfA は病原因子の発現と温度依存性の線毛産生に関与する**
 ○窪田 星子, 中田 匡宣, 広瀬 雄二郎, 山口 雅也, 住友 倫子, 川端 重忠
 (阪大 院歯 口腔細菌)
- P3-38 歯周病の病態形成に関与する T 細胞抗原の探索**
 ○成田 由香¹, 永尾 潤一^{1,2}, 有田 (森岡) 健一^{1,2}, 田崎 園子¹, 根来 (安松) 香奈江¹, 田中 芳彦^{1,2}
 (¹福歯大 感染生物, ²福歯大 口腔医学研究セ)
- P3-39 *Porphyromonas gingivalis* の生育を特異的に阻害する *Gemella haemolysans***
 ○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)
- P3-40 *Streptococcus gordonii* の食食は単球を樹状細胞へと分化誘導する**
 ○田代 有美子, 才木 桂太郎, 山中 幸, 石川 結子, 林田 尚斗, 古西 清司, 高橋 幸裕
 (日歯大 生命歯 微生物)
- P3-41 口腔 *Veillonella* におけるフルクトース代謝経路の探索**
 ○眞島 いづみ^{1,2}, 中澤 太³, 玉井 利代子¹, 清浦 有祐¹
 (¹奥羽大 歯 口腔感染免疫, ²愛院大 薬 微生物, ³インドネシア大 歯 口腔生物)

P3-42 *Fusobacterium nucleatum* による呼吸器上皮細胞とマウス下気道からの炎症性サイトカイン誘導

○高橋 佑和^{1,2}, 今井 健一²
(¹日大 歯 補綴 I, ²日大 歯 細菌)

P3-43 血管内皮細胞における血管新生因子発現に対する細菌リポ多糖の影響

○石河 太知¹, 下山 佑¹, 古玉 芳豊¹, 小笠原 正人², 佐々木 実¹
(¹岩医大 歯 分子微生物, ²岩医大 歯 薬理)

解剖学

PM1-01 歯の欠損と舌萎縮の相関関係について

○高木 貴博¹, 石東 叡¹, 北村 啓^{2,3}, 山本 将仁^{1,3}, 阿部 伸一^{1,3}
(¹東歯大 解剖, ²東歯大 組織発生, ³東歯大 研究ブランディング事業)

PM1-02 高齢者の口腔機能維持向上を目指した口腔機能低下症の予防的アプローチ法の確立

○東 雅啓, 劉 宇豪, 高橋 聡子, 高橋 俊介, 松尾 雅斗
(神歯大 院歯 口腔科学)

PM1-03 「演題取り下げ」

PM1-04 慢性炎症は造血幹細胞の骨髄再構築能を低下させる

○林 慶和
(福歯大 機能構造)

PM1-05 損傷した歯周靭帯は C57BL / 6J マウスにおいて三叉神経中脳路核と運動核の神経変性を誘発する

○Dhar Ashis, 倉本 恵梨子, 岩井 治樹, 山中 淳之, 後藤 哲哉
(鹿大 院医歯 機能形態)

PM1-06 胆道閉鎖症患児由来乳歯幹細胞の細胞移植治療効果を制御する機序の解析

○園田 聡一朗, 村田 早羅, 加藤 大樹, 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)

生化学

PM1-07 BMP9 誘導性骨芽細胞分化における Notch エフェクター分子 Hes1 の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 顎顔面外科, ²鹿大 院医歯 口腔生化)

PM1-08 Dectin-1 を介したパン酵母β - グルカンによる破骨細胞形成の抑制メカニズム

○原 詩歌¹, 有吉 渉², 山崎 亮太², 吉岡 香絵²
(¹九歯大 口腔機能発達, ²九歯大 感染分子生物)

PM1-09 骨吸収が破骨細胞へ与える影響について

○大熊 理紗子, 唐木田 丈夫, 山越 康雄
(鶴大 歯 生化学)

PM1-10 ゴレドロン酸による末梢血単球の破骨細胞分化抑制

○瀧本 玲子¹, 田中 元博^{1,2}, 山田 篤², 宮本 洋一², 笹 清人², 須澤 徹夫², 吉村 健太郎², 高見 正道³, 上條 竜太郎²
(¹昭大 歯 顎顔面口外, ²昭大 歯 口腔生化, ³昭大 薬理科学研究セ)

PM1-11 Rho ファミリー低分子量 G タンパク質 Cdc42 の血管形成および骨形成に対する機能解析

○吉田 優子¹, 山田 篤², 鈴木 航³, 上條 竜太郎², 飯島 毅彦¹
(¹昭大 歯 麻酔, ²昭大 歯 口腔生化, ³昭大 歯 補綴)

PM1-12 BMP 誘導性の異所性骨における骨形成抑制因子スクレロスチン陽性細胞の経時的観察

○松下 雅衣¹, 小出 雅則², 芳澤 享子¹, 堀部 寛治³, 小林 泰浩², 山下 照仁², 中道 裕子², 上原 俊介⁴, 宇田川 信之⁴
(¹松歯大 院 組織再建口外, ²松歯大 総歯医研, ³松歯大 口腔解剖, ⁴松歯大 口腔生化)

PM1-13 抗 MHC 抗体投与後の肺水腫における血管内皮グリコカリックスの分解

○西田 梨恵^{1,2}, 笹 清人¹, 山田 篤¹, 田中 準一³, 美島 健二³, 飯島 毅彦², 上條 竜太郎¹
(¹昭大 歯 口腔生化, ²昭大 歯 麻酔, ³昭大 歯 口腔病理)

PM1-14 C2C12 細胞から骨芽細胞への分化誘導におけるミダゾラムの Drug repositioning の可能性

○日高 亨彦¹, 大熊 理紗子², 唐木田 丈夫², 山本 竜司², 阿部 佳子¹, 斉藤 まり², 山越 康雄², 河原 博¹
(¹鶴大 歯 麻酔, ²鶴大 歯 生化学)

PM1-15 リアルタイムメチル化特異的 PCR 法を用いた新しい年齢推定法の検討

○小方 彩乃, 近藤 真啓, 網干 博文
(日大 歯 法医)

PM1-16 脱灰骨シートに含まれる骨形成因子の同定

○齊藤 悠^{1,2}, 山本 竜司², 白井 麻衣¹, 大熊 理紗子², 山越 康雄²
(¹鶴大 歯 補綴 I, ²鶴大 歯 生化学)

PM1-17 HUCPVC は骨芽細胞への分化能を有している

○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 生化学)

病理学

PM1-18 金属アレルギー発症過程におけるセマフォリン 3A の役割

○劉 黎佩, 渡邊 恵
(徳大 院医歯薬 補綴)

PM1-19 老化関連 T 細胞および唾液腺上皮の細胞老化が口腔乾燥症の病態形成に關与する可能性

○黒澤 実愛, 古川 匡恵, 松下 健二, 四釜 洋介
(国立長寿医療研 口腔疾患研)

PM1-20 癌関連線維芽細胞と口腔扁平上皮癌細胞の相互作用における TGF- β /SOX9 経路の役割

○羽賀 健太^{1,2,3}, 山崎 学³, 丸山 智³, 船山 昭典¹, 小林 正治¹, 田沼 順一³
(¹新潟大 院医歯 組織再建口外, ²新潟大 院医歯 生体組織再生, ³新潟大 院医歯 口腔病理)

PM1-21 ヒト口腔扁平上皮癌に高発現した機械受容器 TRPV4 は CaMKII/AKT シグナル伝達を介して癌細胞の増殖を制御する

○田尻 祐大^{1,2}, 藤井 慎介¹, 清島 保¹
(¹九大 院歯 口腔病理, ²九州医療セ 歯科口腔外科)

PM1-22 IFN- γ 惹起 triptophan-IDO1-kynurenine-AhR シグナル活性化はヒト口腔扁平上皮癌において免疫学的腫瘍休眠状態を誘導する

○Anzai Hiromasa^{1,2}, 吉本 尚平¹, 平木 昭光², 橋本 修一¹
(¹福歯大 病態構造, ²福歯大 口腔腫瘍)

PM1-23 IgG4 関連疾患病態形成における非コード RNA の役割

○木村 宗惟^{1,2}, 安河内 (川久保) 友世¹, 中村 誠司², 自見 英治郎¹
(¹九大 院歯 OBT研究セ, ²九大 院歯 顎顔面腫瘍制御)

生理学

- PM2-01 ラット扁平上皮癌細胞の機械感受性イオンチャネルと拡散可能物質について**
○石崎 元樹¹, 松永 真由美^{1,2}, 矢崎 龍彦^{1,2}, 大山 定男¹, 木村 麻記¹, 澁川 義幸¹
(¹東歯大 生理, ²東歯大 麻酔)
- PM2-02 オキシトシンと副交感性血管拡張の相互作用による新たな顎顔面領域の血流調節機構**
○石川 里奈, 佐藤 寿哉, 三戸 浩平, ラマダニ ラトナ, 石井 久淑
(北医療大 歯 生理)
- PM2-03 三叉神経入力時の歯肉の副交感性血管拡張における部位特異性**
○岡田 悠之介¹, 三戸 浩平², 齊藤 正人¹, 石井 久淑²
(¹北医療大 歯 小児歯, ²北医療大 歯 生理)
- PM2-04 閉口筋運動ニューロンにおける抑制性シナプス伝達の生後変化**
○野口 毅¹, 中村 史朗², 中山 希世美², 望月 文子², 壇辻 昌典², 井上 富雄²
(¹昭大 歯 スペシャルニーズ口腔医学 口腔リハ, ²昭大 歯 口腔生理)
- PM2-05 メタロチオネイン欠損および低亜鉛餌による条件付け味覚嫌悪行動の変化**
○保浦 七愛¹, 乾 賢², 十川 紀夫³, 船橋 誠²
(¹北大 院歯 矯正, ²北大 院歯 口腔生理, ³松歯大 歯科薬理)
- PM2-06 小細胞性網様体中存在する Phox2 陽性ニューロンの電気生理学的・形態学的解析**
○梶原 里紗^{1,2}, 中村 史朗¹, 中山 希世美¹, 望月 文子¹, 壇辻 昌典¹, 立川 哲史², 飯島 毅彦²,
井上 富雄¹
(¹昭大 歯 口腔生理, ²昭大 歯 麻酔)
- PM2-07 三叉神経節ニューロンの機械刺激時の細胞間コミュニケーション**
○矢崎 龍彦¹, 石崎 元樹¹, 松永 真由美¹, 大山 定男², 黒田 英孝³, 木村 麻記², 澁川 義幸²,
一戸 達也¹
(¹東歯大 麻酔, ²東歯大 生理, ³神歯大 院歯 全身管理医歯)
- PM2-08 オプトジェネティクスによる島皮質から腕傍核への下行性投射の電気生理学的特性**
○廣瀬 健佑^{1,2}, 中谷 有香², 武井 浩樹¹, 白川 哲夫¹, 小林 真之²
(¹日大 歯 小児歯, ²日大 歯 薬理)
- PM2-09 動物実験での新たな食感解析法の開発**
○中富 千尋¹, 堀江 成和^{1,2}, 宮村 侑一^{1,3}, 人見 涼露⁴, 小野 堅太郎¹
(¹九歯大 生理, ²九歯大 顎口腔機能矯正, ³九歯大 放射線, ⁴日大 歯 生理)
- PM2-10 麻酔下ラットにおける AMPA 受容体ポジティブアロステリックモジュレーターによる嚥下誘発への効果**
○吉原 翠, 那小屋 公太, 辻村 恭憲, 井上 誠
(新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ)
- PM2-11 慢性閉塞性肺疾患 (COPD) に起因する嚥下機能低下の生理学的検証**
○那小屋 公太, 辻村 恭憲, 吉原 翠, 井上 誠
(新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ)
- PM2-12 老齢マウスにおける唾液線機能と分泌タンパク関連遺伝子の解析**
○山田 真紀雄, 向坊 太郎, 近藤 祐介, 宗政 翔, 野代 知孝, 堀 裕亮, 正木 千尋, 細川 隆司
(九歯大 口腔再建リハ)

PM2-13 マウス味覚器におけるヒアルロン酸シグナルの機能解明

○渡邊 雄^{1,2}, 高井 信吾¹, 重村 憲徳^{1,3}

(¹九大 院歯 口腔機能解析, ²九大 院歯 インプラント, ³九大 五感応用デバイス研究開発セ)

PM2-14 口腔粘膜創傷治療におけるアクトミオシン細胞骨格の変化と TRPV4 の影響

○吉本 怜子¹, 合島 怜央奈², 高 イキ¹, 曹 愛琳^{1,3}, 本田 裕子¹, 内野 加穂¹, 澤田 孟志¹, 清島 保³, 城戸 瑞穂¹

(¹佐賀大 医 組織・神経解剖, ²佐賀大 医 歯科口腔外科, ³九大 院歯 口腔病理)

PM2-15 口内炎モデルラットにおけるステロイド軟膏の効果

○浪花 真子^{1,2}, 中富 千尋¹, 人見 涼露³, 松田 一成⁴, 小野 堅太郎¹

(¹九歯大 院歯 生理, ²九歯大 院歯 口腔保健, ³日大 歯 生理, ⁴第一三共ヘルスケア(株))

PM2-16 歯周炎による歯周組織の機械痛覚変調に対する酪酸の関与

○村上 尚希^{1,2}, 佐藤 秀一¹, 岩田 幸一², 篠田 雅路²

(¹日大 歯 保存Ⅲ, ²日大 歯 生理)

薬理学

PM2-17 「演題取り下げ」

PM2-18 霊長類を用いた歯髄再生制御機構の定量的蛍光イメージング解析

○戸井田 侑, 佐藤 孝紀, 飯村 忠浩

(北大 院歯 細胞分子薬理)

PM2-19 PTH 製剤は骨コラーゲン線維の連続性を高める-非線形光学を応用した霊長類椎体骨コラーゲンの定量的トポロジー解析-

○佐藤 孝紀, 戸井田 侑, 飯村 忠浩

(北大 院歯 細胞分子薬理)

PM2-20 競合 FRET 法を使った蛍光センサーの開発

○Jahan Azmerree, 根津 顕弘, 谷村 明彦

(北医療大 歯 薬理)

PM2-21 実験的矯正力負荷時の疼痛に対するレーザー照射の効果 - 生理活性と機序の検討 -

○土屋 隆子¹, 湯川 未郷², 須田 直人², 安達 一典³

(¹明海大 歯 保存治療, ²明海大 歯 矯正, ³明海大 歯 薬理)

PM2-22 実験的矯正力負荷時の疼痛に対するレーザー照射の効果 - 三叉神経節サテライトグリアの GFAP 発現との関連 -

○湯川 未郷¹, 土屋 隆子², 須田 直人¹, 安達 一典³

(¹明海大 歯 矯正, ²明海大 歯 保存治療, ³明海大 歯 薬理)

PM2-23 涙腺における低分子量 G タンパク質 Cdc42 依存性腺房細胞形成機構

○長瀬 春奈, 設楽 彰子, 大野 雄太, 柏俣 正典

(朝日大 歯 薬理)

PM2-24 AQP5 発現量の異なるラット系統を用いたアセチルコリンによって惹起される唾液分泌の解析

○Akter Tahmina, 根津 顕弘, 谷村 明彦

(北医療大 歯 薬理)

PM2-25 ヒト歯肉線維芽細胞の細胞内カルシウムイオン濃度調節機構に対するフェニトインの作用

○蓑輪 映里佳¹, 倉重 圭史¹, 根津 顕弘², 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)

PM2-26 歯原性上皮細胞株と歯髄幹細胞の共培養による自発的 Ca²⁺振動の増強

○石田 成美, 村田 佳織, 谷村 明彦
(北医療大 歯 薬理)

PM2-27 ラットグリア細胞腫瘍由来 C6 細胞の ATP 刺激による細胞体と突起部のカルシウム応答の特性

○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)

PM2-28 テロメア構造結合性新規化合物のマウスにおける抗癌効果の検討

○福田 晃^{1,2}, 東 泉¹, 竹内 弘¹
(¹九歯大 口腔応用薬理, ²九歯大 顎顔面外科)

PM2-29 抗 RANKL 抗体とゾレドロネートがマウス実験的根尖性歯周炎の成立に及ぼす影響

○池田 めぐみ^{1,2,3}, 瀧澤 秀臣^{2,3,4}, 唐川 亜希子^{2,3}, 坂井 信裕^{2,3}, 茶谷 昌宏^{2,3}, 畔津 佑季^{2,3}, 鈴木 規元¹, 高見 正道^{2,3}
(¹昭大 歯 歯科保存 歯内治療, ²昭大 歯 歯科薬理, ³昭大 薬理科学研究セ, ⁴昭大 歯 矯正)

PM2-30 星状神経節ブロックにおける局所麻酔薬による組織酸素化の比較

○安田 美智子¹, 黒田 英孝¹, 高橋 聡子², 高橋 俊介²
(¹神歯大 院歯 全身管理医歯, ²神歯大 院歯 口腔科学)

PM2-31 局所麻酔薬によるムスカリン受容体を介する Ca²⁺ 応答の抑制作用とその作用機序

○島谷 真梨¹, 根津 顕弘², 谷村 明彦²
(¹北医療大 歯 組織再建口外, ²北医療大 歯 薬理)

組織・発生学

PM3-01 胎生期マウスの外側口蓋突起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 口腔顎顔面外科 2, ³明海大 歯 口腔顎顔面外科 1)

PM3-02 「演題取り下げ」

PM3-03 矯正学的歯の移動時において Gli1 陽性歯根膜細胞は骨芽細胞に分化する

○関 有里^{1,2}, 建部 廣明¹, 溝口 利英³, 入江 一元⁴, 細矢 明宏¹
(¹北医療大 歯 組織, ²北医療大 歯 矯正, ³東歯大 口腔科学研セ, ⁴北医療大 歯 解剖)

PM3-04 「演題取り下げ」

PM3-05 マウス歯の再植後の歯髄治癒過程におけるオステオポンチンの役割

○Suzuki Kiyoko¹, Makishi Sanako¹, Nakatomi Mitsushiro², Saito Kotaro¹, Iida-Yonemochi Hiroko¹, Ohshima Hayato¹
(¹新潟大 院医歯 硬組織形態, ²九歯大 解剖)

PM3-06 転写共役因子 Smad4 はマウス切歯において上皮細胞の運命を制御する

○町谷 亜位子^{1,2,3}, 須田 直人², 片桐 岳信¹
(¹埼玉医大 医 ゲノム基礎医学, ²明海大 歯 矯正, ³明海大 歯 オーラルリハビリ)

PM3-07 シングルセル RNA シーケンスによる歯胚遺伝子発現プロファイル

○千葉 雄太¹, 王 欣¹, 吉岡 直哉¹, 福本 敏²
(¹東北大 院歯 小児歯, ²九大 院歯 小児口腔)

PM3-08 歯髄幹細胞由来無血清培養上清を用いた変形性顎関節症の治療法開発

○加納 史也, 山本 朗仁
(徳大 院医歯薬 組織再生制御)

PM3-09 骨軟骨組織における TRPV4 遺伝子欠失の影響

○内野 加穂^{1,2,3}, 吉本 怜子¹, 高 イキ¹, 本田 裕子¹, 牧野 優徳¹, 澤田 孟志¹, 山下 佳雄², 城戸 瑞穂¹

(¹佐賀大 医 組織・神経解剖, ²佐賀大 医 歯科口腔外科, ³日本学術振興会 特別研究員DC)

PM3-10 唾液腺機能障害におけるヒト歯髄幹細胞由来細胞外小胞による予防効果の検討

○董 嬌, 酒井 陽, 小間 義朗, 渡邊 純奈, 日比 英晴

(名大 院医 顎顔面外科)

PM3-11 サチライシン様前駆体蛋白質変換酵素 PACE4 のラット顎下腺発生過程における局在

○佐藤 匠^{1,2}, 姚 陳娟³, 長谷川 敬展³, 吉村 弘³, 赤松 徹也²

(¹徳大 院創成科学 生物資源, ²徳大 院社会産業理工 生体分子機能, ³徳大 院医歯薬 口腔分子生理)

微生物学

PM3-12 ヒノキチオールの抗菌活性および抗炎症作用によるマウス歯牙結紮歯周炎モデル骨吸収抑制作用の解析

○日吉 巧^{1,2}, 土門 久哲^{1,3}, 前川 知樹^{1,2,3}, 田村 光^{1,2,3}, 國友 栄治⁴, 寺尾 豊^{1,3}

(¹新潟大 院医歯 微生物, ²新潟大 院医歯 歯周診断・再建, ³新潟大 院医歯 高度口腔機能教研セ, ⁴小林製薬 中央研)

PM3-13 EBV LMP1 は NF- κ B を活性化を介し歯肉上皮細胞からの炎症性サイトカイン産生を誘導する

○渡辺 典久¹, 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)

PM3-14 GroEL を用いた経鼻ワクチンによる歯周病抑制効果の検討

○Chang Emily¹, 小林 良喜², 落合 智子²

(¹日大 松戸歯 口外, ²日大 松戸歯 感染免疫)

PM3-15 S-PRG フィラーから放出されるイオン水の口腔微生物発育阻止効果

○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 歯 総歯研 生体防御)

PM3-16 グリシンにより誘導された細菌メンブレンベシクルの特性解析—歯周病原細菌ベシクルワクチンの粘膜アジュバント開発等に向けて—

○平山 悟, 中尾 龍馬

(国立感染症研 細菌第一部)

PM3-17 バイオフィルムに着目したう蝕予防法の開発に向けた新しいアプローチ

○有田 (森岡) 健一^{1,2}, 永尾 潤一^{1,2}, 成田 由香^{1,2}, 根来 (安松) 香奈江¹, 田崎 園子¹, 田中 芳彦^{1,2}

(¹福歯大 感染生物, ²福歯大 口腔医学研究セ)

PM3-18 施設入所高齢者の舌常在細菌叢における口腔非常在細菌の同定

○朝川 美加李¹, 竹下 徹^{1,2}, 影山 伸哉¹, 山下 喜久¹

(¹九大 院歯 口腔予防, ²九大 院歯 OBT研究セ)

PM3-19 肺炎球菌が非血行性に脳へ伝播する機構の解析

○高原 悠樹^{1,2}, 住友 倫子¹, 山口 雅也¹, 中田 匡宣¹, 川端 重忠¹

(¹阪大 院歯 口腔細菌, ²阪大 院歯 クラウンブリッジ)

PM3-20 歯周炎の重症度と唾液中の縁下特異細菌との関係

○馬 佳楽, 影山 伸哉, 竹下 徹, 朝川 美加李, 山下 喜久

(九大 院歯 口腔予防)

PM3-21 松果体ホルモンメラトニンはミトコンドリア機能制御を通して自然免疫細胞の活性化制御を行う

○菊池 真理子^{1,2}, 嘉手納 未季^{2,3}, 桑田 啓貴²
(¹昭大 院歯 地域連携, ²昭大 歯 口腔微生物, ³昭大 歯 スペシャルニーズ口腔医学 障害者)

PM3-22 アルデヒド脱水素酵素 2 (ALDH2) 遺伝子多型と喘息の関連

○牧野 優徳, 吉本 怜子, 高 イキ, 本田 裕子, 内野 加穂, 澤田 孟志, 城戸 瑞穂
(佐賀大 医 組織・神経解剖)

PM3-23 ザイモザン誘導性免疫麻痺モデルにおける PD-1/PD-L1 経路の役割

○敖 翔^{1,2}, 東 みゆき¹, 永井 重徳¹
(¹医科歯科大 院医歯 分子免疫, ²医科歯科大 院医歯 歯髄生物)

PM3-24 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, 引地 尚子¹
(¹九歯大 口腔保健学科, ²九歯大 感染分子生物)

PM3-25 タンパク分解系を介した TGF- β 1 による破骨細胞分化支持能の負の制御機構の解明

○Inoue Momoko^{1,2}, 川元 龍夫², 有吉 渉¹
(¹九歯大 感染分子生物, ²九歯大 顎口腔機能矯正)

PM3-26 エリスロマイシンによる Del-1 誘導を介した骨代謝の制御

○田村 光^{1,2,3}, 前川 知樹^{1,2}, 土門 久哲^{1,2}, 日吉 巧^{1,3}, 前田 健康², 寺尾 豊^{1,2}
(¹新潟大 院医歯 微生物, ²新潟大 院医歯 高度口腔機能教研セ, ³新潟大 院医歯 歯周診断・再建)

学部学生ポスター

PS-01 プロバイオティクス投与による歯周病の抑制機構の解明

○中村 麻衣^{1,2}, 梁 尚陽^{1,2}, 永尾 潤一^{2,3}, 田中 芳彦^{2,3}
(¹福歯大 リサーチスチューデント, ²福歯大 感染生物, ³福歯大 口腔医学研究セ)

PS-02 Candidalysin は IL-1 α 分泌を介して上皮細胞を活性化する

○花岡 麻里子¹, 堂前 英資²
(¹大歯大 歯 5年, ²大歯大 歯 生化)

PS-03 新規癌関連遺伝子のエナメル上皮腫における高発現とその機能解析

○石橋 拓馬¹, 藤井 慎介², 清島 保²
(¹九大 歯 5年, ²九大 院歯 口腔病理)

PS-04 老化促進モデルマウスの口腔内化学感覚についての行動解析

○倉木 萌¹, 乾 千珠子², 阿部 真土², 脇坂 聡²
(¹阪大 歯, ²阪大 院歯 口腔解剖1)

PS-05 軸索ガイダンス因子 Sema3a による唾液腺発生制御メカニズムの解明

○藤本 龍史^{1,2}, 藤井 慎介², 清島 保²
(¹九大 歯, ²九大 院歯 臨床口腔病理)

PS-06 マウス下顎骨切歯エナメル器における CD44 と endomucin 陽性血管の局在について

○越石 麟, 本郷 裕美, 網塚 憲生, 長谷川 智香
(北大 院歯 硬組織発生)

PS-07 口腔内細菌叢解析システム：PCR-RFLP 法によるプロファイリング

○河内 美帆¹, 丸山 伸吾¹, 栢田 菜々子¹, 佐野 拓人^{2,3}, 涌井 杏奈², 八巻 恵子⁴, 鷲尾 純平⁴,
高橋 信博⁴, 佐藤 拓一²
(¹新潟大 医保 臨床化学, ²新潟大 医保 臨床化学, ³日歯大 新潟生命歯 病理, ⁴東北大 院歯 口腔生化)

PS-08 歯周病原細菌に対する増殖阻害活性を示すヒト口腔内常在細菌のスクリーニングと解析

○池本 梨央南^{1,2}, 中村 麻衣^{1,2}, 永尾 潤一^{2,3}, 有田 (森岡) 健一^{2,3}, 田中 芳彦^{2,3}
(¹福歯大 リサーチスチューデント, ²福歯大 感染生物, ³福歯大 口腔医学研究セ)

PS-09 フキの葉抽出物成分によるアンチエイジング効果の検討

○櫻井 菜緒美, 渋谷 史織, 齊藤 魁星, 川崎 博生, 高田 鮎子, 荒川 俊哉
(北医療大 歯 生化)

PS-10 LUCID を使った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, 島谷 真梨², 吉田 光希³, 安彦 善裕³, 谷村 明彦⁴
(¹北医療大 歯 6年, ²北医療大 歯 組織再建口外, ³北医療大 歯 臨床口腔病理, ⁴北医療大 歯 薬理)

抄 録

■ ロッテ基金特別講演	53
■ 特別講演・市民公開講座	55
■ 歯科基礎医学会学会奨励賞受賞講演会	56
■ メインシンポジウム	61
■ イノベーション・ロードマップ・シンポジウム	77
■ 日本歯科理工学会共催シンポジウム	81
■ 日本骨形態計測学会合同シンポジウム	84
■ 日本学術会議シンポジウム	90
■ 先端歯学国際教育研究ネットワーク・シンポジウム	93
■ 教育セミナー（協賛：エルゼビア・ジャパン）	97
■ アップデートシンポジウム	98
■ Web セミナー	144
■ 一般演題（一般口演）	149
■ 一般演題（一般ポスター）	192
■ 一般演題（モリタ優秀発表賞応募ポスター）	311
■ 一般演題（学部学生ポスター）	387



SL1 Modulators of Phosphate/Pyrophosphate play major roles during formation and regeneration of the periodontal complex

○Martha J. Somerman

NIDCR, NIH/NIAMS, NIH Lab Oral Connect Tissue Biol

This presentation focuses on regulators of phosphate (Pi) and pyrophosphate (PPi) during formation and regeneration of the periodontia and highlights research supported by NIDCR. It is well recognized that the oral cavity is highly sensitive to perturbations in Pi/PPi, however specific factors and mechanisms involved remain elusive.

METHODS: To define the role of regulators of pericellular Pi/PPi concentrations during formation and regeneration of the periodontium murine models, with alterations in specific genes were generated: ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 (*Enpp1*/ENPP1), progressive ankylosis protein (*Ank*/ANK) and tissue-nonspecific alkaline phosphatase (*Alpl*/TNAP), osteopontin (*Spp1*/OPN) and bone sialoprotein (*Bsp*/BSP). Teeth from individuals with *ENPP1* mutations were analyzed. animal studies: blood profiles, microCT, histomorphometry, and a murine periodontal disease model. In vitro: cell lines were established using CRISPA-Cas9 technologies and analyzed under various conditions.

RESULTS: Decreasing expression of genes that play a role in maintaining levels of PPi within the periodontal region (*Enpp1* and *Ank*) resulted in a marked (tenfold) enhancement of cementum formation without compromising the periodontal ligament (PDL) in mice and humans (*Enpp1* mutations). Interestingly, double KO *Enpp1/Ank mice* exhibited a similar PDL phenotype to the single KOs, demonstrating the ability of factors within the PDL region to modulate mineral formation. In contrast, decreasing expression of genes associated with maintaining appropriate levels of Pi within the periodontal region resulted in limited cementum formation. Restoring Pi levels locally using a periodontal defect model promoted regeneration of cementum and surrounding bone. Moreover, in both cell culture and animal models we noted an association between BSP and ANK, linked in part to an effect of BSP on PPi concentrations, warranting further investigation.

CONCLUSIONS: Collectively, the data support an inverse relationship between levels of PPi and acellular cementum formation and provide evidence that factors modulating Pi/PPi locally are attractive therapeutics for regeneration of the periodontia.

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

SL2 エキスパートの直感思考の仕組み：将棋棋士とサッカー選手の研究から

○田中 啓治

理研 脳神経研究セ

特定の分野において普通の人の能力を遥かに超える優れた問題解決能力を示す人達をその分野のエキスパートと呼ぶ。エキスパートになるにはその分野での長い訓練が必要である。1950年代に始まる心理学的研究によりエキスパートの優れた能力の中心に直観のあることが示されてきた。しかし、エキスパートの直感思考の脳メカニズムについては不明であった。

私達はプロ棋士が詰め将棋問題を解くときの脳活動を機能的磁気共鳴画像法で測定し、問題をじっくりと分析的に解く場合と短時間に直観的に解く場合に共通に現れる大脳連合野の活動に加えて、問題を直観的に解くときには大脳基底核尾状核に活動が現れることを見出した。この発見の一般性を調べるために、プロサッカー選手に試合中のフィールドの動画を見せてパスを出す先を決めてもらったところ、やはり直観的に決めるときにだけ尾状核が活動した。

すなわち、将棋とサッカーに共通に、具体的行為の直観的決定は尾状核の活動と結びついていた。さて、直観にはいろいろな種類がある。複雑な状況の中で応答を迫られたとき、エキスパートはまず大まかな応答のカテゴリー（戦略）を決め、次にその戦略のもとで具体的な応答を決める。具体的応答を分析せずに決めるこのような戦略決定は直観的と言える。将棋のエキスパートが与えられた盤面で守るべきか攻めるべきかを短時間に決めるときに脳活動を調べたところ、帯状皮質が顕著に活動しており、その後部の活動が攻めの主観的価値を、前部が守りの主観的価値を表した。大脳基底核は多くの可能性の中から最も有望な行為を選ぶ選択のために有利な回路を発達させて持っている。帯状皮質は情動によって行為を自動的に選ぶ脳幹出力回路につながっている。

エキスパートは長い訓練の中で大脳皮質連合野における複雑な情報処理をこれらの自動装置につなぐことによって、認知的に複雑な問題解決を自動的に行う能力を得たのではないか。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

SL2 How expert intuitive thinking works: studies of shogi and soccer experts

○Tanaka K

Ctr Brain Sci, RIKEN

People who demonstrate superior problem-solving capability in a particular field are called experts, and psychological studies have shown that intuition is at the heart of their superior capability. We used fMRI to measure brain activity of professional shogi players when they solved spot-games of shogi.

We found that besides association cortical areas, which were commonly activated when the problem was solved analytically and intuitively, the caudate nucleus of the basal ganglia was activated specifically in intuitive decision making.

Meanwhile, being forced to respond in a complex situation, experts first select a general response category (strategy) and then select a concrete response based on that strategy. Such strategic decisions made without analyzing concrete responses can be said to be intuitive. When shogi experts quickly decided whether to defend or attack on a given board, the activity in the posterior part of the cingulate cortex represented the subjective value of offense while that of its anterior part represented the subjective value of defense. The basal ganglia and cingulate cortex are evolutionally old structures for automatic action selection.

By connecting complex information processing in cortical association areas to these automated devices, experts may have developed the capability to automatically solve cognitively complex problems.

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

**PL ウイルス感染症とその最新治療薬
～新型コロナウイルス感染症からエイズまで～**

○馬場 昌範

鹿大 ヒトレトロウイルス共同研究セ 抗ウイルス化学療法

1977年に副作用がほとんどなく、全身投与が可能な抗ヘルペス薬のアシクロビルが発見されてから、40年以上の歳月が経過した。その後、ウイルス感染症に対する治療薬の研究開発が本格化し、現在ではその対象がヒト免疫不全ウイルス（HIV-1）、インフルエンザウイルス、B型肝炎ウイルス（HBV）およびC型肝炎ウイルス（HCV）へと拡大している。中でも、「不治の病」として恐れられたエイズは、約35年にわたる精力的な研究の結果、多くの薬剤が開発されたことで、「制御可能な慢性疾患」へと変貌を遂げた。さらに、これまで困難を極めていたC型肝炎についても、抗ウイルス薬が開発されたことで、ほとんどの症例において、数か月で体内からHCVを駆逐できるようになった。

このように、抗ウイルス薬はワクチンと並んで、ウイルス感染症の制圧には欠くことが出来ないものとなった。一方で、新興・再興感染症と呼ばれるウイルス感染症の蔓延が人類にとって大きな脅威になりつつあり、これには致死率が極めて高いエボラ出血熱、マダニが媒介し西日本に多発する重症熱性血小板減少症候群（SFTS）、そして言うまでもなく、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）が含まれる。

演者はこれまで約40年間、エイズやウイルス肝炎に対する治療薬の研究を行ってきた。そこで本講演ではこの経験を踏まえ、エイズやウイルス肝炎に加え、SFTSや新型コロナウイルス感染症についてもお話するとともに、これらの治療薬に関する自身の研究結果も交えながら、分かりやすく解説したいと思う。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

**PL Viral infections and their chemotherapeutic agents
- From new coronavirus infection to AIDS -**

○Baba M

Div Antiviral Chemotherapy, Joint Res Ctr Human Retrovirus Infect, Kagoshima Univ

After the discovery of the anti-herpes drug acyclovir, more than 40 years have passed. In the meantime, a number of antiviral drugs have been developed for treatment of AIDS, influenza, and viral hepatitis as well as herpes virus infections.

On the other hand, the spread of fatal emerging viral infections, including Ebola hemorrhagic fever, severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) mediated by ticks, and needless to say, a new coronavirus infection (COVID-19), is becoming a serious threat to humanity.

Since we have been studying therapeutic agents against especially AIDS and viral hepatitis for a long period of time, I would like to talk about our recent studies on the chemotherapy of SFTS and COVID-19 in addition to the current approaches toward antiviral drugs against AIDS and viral hepatitis.

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

JR-1 モノカルボン酸トランスポーター 1 は骨芽細胞分化の負の調節因子 p53 の抑制を介して骨芽細胞分化を促進する

○笹 清人, 吉村 健太郎, 宮本 洋一, 上條 竜太郎

昭大 歯 口腔生化

トランスポーターは細胞膜上に発現し低分子化合物を細胞内外に輸送する膜タンパク質である。トランスポーターの異常による疾患を「トランスポーター病」といい、加齢により増加することが知られている。モノカルボン酸トランスポーター 1 (MCT1) は細胞膜に分布し、乳酸やピルビン酸、ケトン体などのモノカルボン酸の細胞内外への輸送を担う担体である。我々はこれまでに、軟骨細胞の MCT1 が炎症性軟骨細胞死および軟骨基質の分解に重要な役割を果たしていることを報告した。しかし、他の硬組織構成細胞における MCT1 の機能は不明であった。そこで本研究では、骨芽細胞分化における MCT1 の役割を解析した。MCT1 の遺伝子発現を siRNA により抑制したマウス筋芽細胞株 C2C12 細胞を骨形成因 (BMP2) で刺激し骨芽細胞分化を誘導した。Mct1 siRNA は、C2C12 細胞における細胞内乳酸濃度を増加させ、BMP2 誘導性の ALP 活性上昇および骨芽細胞分化マーカー遺伝子の発現上昇を抑制した。癌抑制遺伝子 p53 の核移行ならびに遺伝子発現の上昇は Mct1 siRNA により促進された。一方、Mct1 siRNA は BMP2/Smad の標的遺伝子 *Id1* の発現および MAPK 経路を変化させなかった。これらの現象は、初代培養骨芽細胞でも観察された。

MCT1 は p53 の発現抑制を介して骨芽細胞分化を正に制御するという新たな機能を持つことが明らかとなった。様々な骨代謝疾患を MCT1 に関連した「トランスポーター病」として捉え直すことで、MCT1 を骨形成制御の新たな標的とすることが可能かもしれない。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

JR-1 Monocarboxylate transporter-1 promotes osteoblast differentiation via suppression of p53, a negative regulator of osteoblast differentiation

○Sasa K, Yoshimura K, Miyamoto Y, Kamijo R

Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent

Transporters are the membrane proteins that transport compounds into and out of the cells. The diseases caused by an abnormality in transporters are called “transporter diseases”. Monocarboxylate transporter-1 (MCT1) is a transmembrane transporter for monocarboxylates such as lactate and pyruvate. We previously reported that MCT1 was required for chondrocyte death and degradation of cartilage matrix in inflammatory conditions. Functions of MCT1 in bone metabolism, however, have not been fully elucidated. Here we report the role of MCT1 in osteoblast differentiation. After the introduction of *Mct1* siRNA, mouse myoblastic C2C12 cells were stimulated with BMP2. Alkaline phosphatase (ALP) activity and the expression of marker genes for osteoblast differentiation were assessed to evaluate their differentiation into osteoblast-like cells. *Mct1* siRNA suppressed BMP2-induced increase in both the expression of osteoblast-associated genes and ALP activity. While *Mct1* siRNA did not affect the mRNA expression of *Id1*, a target gene of the BMP/Smad signal, it augmented that of *p53*, one of the transcription factors that suppress osteoblast differentiation. Nuclear accumulation of p53 protein was also enhanced by *Mct1* siRNA.

In the present study, we found a novel function of MCT1 as a promoter of osteoblast differentiation through the suppressed activation of p53.

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

JR-2 咬筋運動ニューロン樹状突起における 5-HT_{2A} 受容体の活性化は Src を介して GluN2A を含む NMDA 受容体の機能を亢進する

○壇辻 昌典, 中村 史朗, 中山 希世美, 望月 文子, 井上 富雄

昭大 歯 口腔生理

咬筋運動ニューロン (MMN) は, 豊富なセロトニン (5-HT) 入力とグルタミン酸性のシナプス入力を受ける. しかし, 5-HT のグルタミン酸性入力に対する影響は不明である. そこで本研究は, 幼若期ラット MMN 樹状突起に誘発したグルタミン酸応答に対する 5-HT 投与の効果を解析した. ラット脳幹スライス標本作製し, MMN からパッチクランプ記録を行った. 窒素パルスレーザー, または 2 光子励起レーザーの照射でケージドグルタミン酸からグルタミン酸を局所的に解離し, MMN の樹状突起にグルタミン酸応答を誘発した. MMN のグルタミン酸応答は, 5-HT または 5-HT_{2A} 受容体刺激薬の投与で増大したが, 5-HT_{2B} または 5-HT_{2C} 受容体刺激薬投与では変化がなかった. 5-HT の増大効果は 5-HT_{2A/2C} 受容体拮抗薬で抑制された. また, 5-HT のグルタミン酸応答の増大効果は NMDA 受容体拮抗薬の投与で抑制されたが, AMPA 型受容体拮抗薬は影響しなかった. また, NMDA 電流は 5-HT で増大し, この増大効果は NMDA 受容体サブユニットの GluN2A 拮抗薬投与で減弱したが GluN2B 拮抗薬では変化しなかった. さらに, Src 阻害剤で 5-HT によるグルタミン酸応答の増大効果は減弱した. ウェスタンブロット解析で, 5-HT による三叉神運動核の Src の活性化と GluN2A のリン酸化の増加が観察された. 2 光子励起によって樹状突起の微小領域に誘発されたグルタミン酸応答は, 5-HT の微小投与を近傍に行うと増強したが, 離れた部位では変化がなかった.

以上の結果から 5-HT は MMN 樹状突起上の 5-HT_{2A} 受容体を活性化し, Src を介して近接する GluN2A を含む NMDA 受容体の機能を亢進することでグルタミン酸入力を増強することが明らかになった. 5-HT による増強効果は, 広い範囲での閉口筋の張力調節に役立つ可能性がある.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

JR-2 Activation of 5-HT_{2A} receptor enhances function of GluN2A-containing NMDA receptor via Src kinase in dendrites of rat jaw-closing motoneurons

○Dantsuji M, Nakamura S, Nakayama, K, Mochizuki A, Inoue T

Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent

Jaw-closing masseter motoneurons (MMNs) receive both glutamatergic and 5-HT input; however, effects of 5-HT on glutamatergic input to the dendrites of MMNs remains unknown. We examined the effects of 5-HT on glutamatergic postsynaptic responses (glutamate responses) in the MMN dendrites evoked by single- or two-photon laser photolysis of caged glutamate in brainstem slice preparations obtained from neonatal rats. Application of 5-HT enhanced glutamate responses. The 5-HT_{2A} receptor (5-HT_{2AR}) agonist mimicked the 5-HT-induced enhancement, which was antagonized by the 5-HT_{2A/2C}R antagonist. Blockade of NMDA receptors (NMDARs), but not AMPA receptors, abolished the 5-HT-induced enhancement. 5-HT also enhanced NMDAR currents evoked by glutamate uncaging, whereas 5-HT-induced enhancement of NMDAR currents was abolished by the GluN2A antagonist, but not the GluN2B antagonist. Addition of the Src kinase inhibitor reduced the 5-HT-induced enhancement. Glutamate responses evoked in the restricted areas in the MMN dendrites by two-photon uncaging of glutamate were enhanced when the 5-HT_{2AR} agonist was puffed near the uncaging loci.

These results suggest that activation of 5-HT_{2AR}s in the MMN dendrites enhances the function of GluN2A-containing NMDAR nearby via Src kinase. Such enhancement of glutamate responses by 5-HT may contribute to wide-range regulation of contractile forces of the jaw-closing muscles.

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

JR-3 FIB-SEM を用いた骨細胞の三次元微細構造解析

○長谷川 智香

北大 院歯 硬組織発生

骨組織の形態学は、光学顕微鏡や走査型 / 透過型電子顕微鏡の開発や応用技術に支えられて発展してきた。近年、様々な観察機器の開発ならびに生物試料への応用が進み、細胞の動的状態での解析や高解像度な三次元画像解析など、より多角的な解析が可能になってきている。FIB-SEM (Focused Ion Beam-Scanning Electron Microscope) は、試料表面の切削と SEM 撮影を繰り返すことで、透過型電子顕微鏡と同等の解像度で試料の 3 次元微細構造観察を可能にする。我々が観察対象とする骨組織は、骨基質のほか骨芽細胞や破骨細胞、骨細胞といった様々な骨の細胞群や血管、神経で構成される。骨基質に埋め込まれた骨細胞は、細胞突起を介して周囲の骨細胞や骨表面の骨芽細胞と連結し、骨細胞・骨細管系と呼ばれる骨細胞ネットワークを形成する。骨細胞ネットワークは、力学的負荷の感知や骨基質ミネラルの維持、物質移動などに寄与すると考えられており、我々はその微細構造解明を目指してきた。

この度、骨組織に最適な FIB-SEM の試料作成・観察法を確立し、骨細胞ネットワークの複雑な三次元微細構造を明らかにしたことから、本講演にてそれらの知見をご紹介します。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

JR-3 Three-dimensional ultrastructure of osteocytes assessed by focused ion beam-scanning electron microscopy (FIB-SEM)

○Hasegawa T

Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Bone histology has been progressed mainly by the analytical development and technique of light microscopy and scanning/transmission electron microscopy. Recently, the development of various microscopic equipment makes it possible to acquire high resolution and three-dimensional (3D) images in the field of life sciences. Focused Ion Beam- Scanning Electron Microscopy (FIB-SEM) can display the ultrastructural 3D reconstruction of the objects with the same high resolution as transmission electron microscopy. Bone tissue is composed of bone cells (osteoblasts, osteoclasts, osteocytes, etc), blood vessels, nerves, and bone matrix. Osteocytes embedded in the bone matrix communicate not only neighboring osteocytes but also osteoblasts or bone-lining cells through their cytoplasmic processes. I have attempted to elucidate the FIB-SEM image of osteocytic network, *i.e.*, osteocytic lacunar-canalicular system enabling the molecular transports, the sensing of mechanical stimuli and the maintaining for bone mineral homeostasis. I have established an optimal FIB-SEM sample preparation and observation method for bone tissue, in order to clarify the ultrastructural 3D images of osteocytic network.

In this presentation, I would like to introduce our new findings of osteocytic network by using FIB-SEM.

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

JR-4 マウス脛骨発生過程における septoclast の由来と発生

○坂東 康彦

明海大 歯 解剖

Septoclast は長管骨骨端板の骨軟骨境界で毛細血管に隣接して存在する単核・紡錘形の細胞であり、骨端板の非石灰化軟骨基質である横隔に細長い突起を伸ばしその吸収に関与すると考えられている。我々はこれまでに septoclast が骨端板骨軟骨境界において表皮型脂肪酸結合タンパク (epidermal-type fatty acid binding protein; E-FABP) を特異的に発現することを見出し、E-FABP が長鎖脂肪酸の細胞質内輸送や核へのレチノイン酸の細胞質内輸送により脂肪酸代謝やシグナル伝達に関与することを示した。

本研究では未解明であった発生過程における septoclast の由来と役割を組織化学的に調べた。E-FABP 陽性 septoclast はマウス脛骨原基軟骨中央部の軟骨膜付近に出現し、pericyte (血管周皮細胞) マーカーである PDGFR β と NG2 を発現した。septoclast は軟骨原基へ進入する毛細血管の内皮細胞に隣接し、軟骨吸収面に接しながら移動した。発生直後は、細胞体は丸く突起は短い、一次骨化中心の形成に伴い細胞体は大きく突起は長く成長した。突起の先端は von Kossa 陰性の非石灰化軟骨基質に達していた。一次骨化中心完成時には骨端板骨軟骨境界部に収束し、成獣にみられる分布と形態になった。

本研究から septoclast は軟骨原基中央部の軟骨膜に接する毛細血管の pericyte から分化し、軟骨内骨化の過程で非石灰化軟骨を吸収し、軟骨原基への血管侵入と一次骨化中心形成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。

JR-4 Origin and development of septoclasts in endochondral ossification of mice

○Bando Y

Div Anat, Meikai Univ Sch Dent

Septoclasts are mononuclear and spindle-shaped phagocytes which are involved in uncalcified cartilage matrix. Septoclasts distribute adjacent to the capillary sprouts at the chondro-osseous junction of the epiphyseal plate. We previously reported that exclusive expression of epidermal-type fatty acid-binding protein (E-FABP) in septoclasts at the chondro-osseous junction of the epiphyseal plate of mice.

In this study we investigated the origin and development of septoclasts during mice tibial development histochemically. Septoclasts were emerged at the perichondrium in the middle of the cartilaginous template of the tibia and expressed pericyte markers, PDGFR β and NG2. During formation of the primary ossification center, septoclasts migrated adjacent to the endothelial cells at the tip of the invading blood vessel and distributed on the surface of cartilage resorption. The cell bodies gradually become larger, and their processes became 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 converged on the chondro-osseous junction of the epiphyseal plate as seen in adult mice.

Present study suggests that septoclasts are differentiated from pericytes and involved in blood vessel invasion and cartilage resorption in the endochondral ossification.

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

JR-5 オステオカルシンによる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

九大 院歯 OBT研セ

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。一方、消化管ホルモンである Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) もインスリン分泌促進作用を持つほか、食欲制御作用、心血管保護作用など、様々な生理活性をもつ。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 が GLP-1R KO の全身糖・脂質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、耐糖能の低下、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を 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。そしてその上昇は、GLP-1 のアゴニストである Exendin-4 によって抑えられた。

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 受容体シグナルは必須であり、GluOC 単独では肝臓における糖新生を誘導し、糖代謝の異常を引き起こすが、GLP-1 受容体シグナルがそれを抑制することで全身の糖代謝を適切に調節していることが示唆された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

JR-5 Role of glucagon-like peptide-1 receptor signaling in osteocalcin-mediated improvement of whole-body metabolism

○Mizokami A

OBT Res Ctr, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Uncarboxylated osteocalcin (GluOC), a bone-derived hormone, regulates 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, long-term 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 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 author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

MS1-1 味蕾細胞分化の制御機構

○三浦 裕仁, 小柳 江梨子, 原田 秀逸

鹿大 院医歯 口腔生理

味覚は、嗅覚とともに食の喜びを享受するために欠かせない感覚であると同時に、摂取すべき栄養物と、体に害を及ぼす可能性のある物質とを識別する重要な役割を担っている。味覚の末梢受容器である味蕾は、I型（グリア様細胞）、II型（甘味・うま味・苦味受容細胞）、III型（酸味受容細胞）という3種類の機能細胞を含んでいる。これらの細胞は、味蕾周囲の上皮幹細胞から最終分裂が終了した細胞として味蕾の基底部に供給されている味蕾前駆細胞から新しく分化し、常に置き換わっている。味蕾を構成する多様な細胞が協調的に分化して味蕾の構造と機能が一定に維持されるために、様々な調節因子の関与が必要であると考えられる。

私達は、味神経からの誘導を受けて、進化的に保存された細胞増殖・分化の調節因子である Shh が味蕾基底細胞で選択的に発現することを見いだした。また、特定の細胞型に選択的に発現する転写因子に加えて、マウス胚の味蕾原基で発現し始めて、その発現が成体の味蕾のほぼ全ての細胞に認められる転写因子について報告した。

本シンポジウムでは、これまでに得られた知見を振り返り、味蕾細胞分化の仕組みについて議論したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

MS1-1 Regulatory mechanisms of taste bud cell differentiation

○Miura H, Koyanagi E, Harada S

Dept Oral Physiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

Taste buds, the peripheral gustatory sensory organs, contain three functional cell types, type I (Gila-like), type II (sweet, umami, and bitter sensing) and type III (sour sensing) cells. These cells are constantly renewed from the post-mitotic precursor cells reside in the basal region of taste buds, which are derived from epithelial stem cells surrounding taste buds. A variety of regulatory factors are assumed to contribute to the coordinated differentiation of taste bud cells. We previously found the taste nerve induces the expression of Sonic hedgehog, an evolutionally conserved regulatory factor for cell growth and differentiation, in the basal cells of taste buds.

We reported not only transcription factors specifically expressed in particular cell types but also a factor, the expression of which turns on in the embryonic taste bud primordia and persists in almost all taste bud cells in adulthood.

In this symposium, we will review our findings and discuss the mechanisms of taste cell differentiation.

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

MS1-2 オルガノイド培養系を用いた味細胞分化メカニズム解明への新たなアプローチ

○高井 信吾¹, 渡邊 雄^{1,2}, Robert F. Margolskee³, Peihua Jiang³, ニノ宮 裕三^{3,4}, 重村 憲徳^{1,4}

¹九大 院歯 口腔機能解析, ²九大 院歯 インプラント・義歯補綴, ³モネル科学感覚セ, ⁴九大 五感応用デバイス研セ

2013年, 有郭乳頭味蕾の幹細胞が乳頭基底部に存在する leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor (Lgr5) 陽性細胞群であることが同定された。さらに翌年, この幹細胞を種々の成長因子や細胞外基質を含む培地で3次元培養することで, 生体と同様の味細胞を含むオルガノイドコロニーが作製可能であることが報告された。この新規の3次元培養系は味蕾の発生メカニズム解明において非常な有用なツールとなりうる可能性を秘めている。

本研究では, 味細胞の分化・増殖に影響を与える因子を, オルガノイド培養系を用いて探索した。全身のエネルギー代謝は, 味細胞の機能的, また構造学的恒常性の維持に重要であると考えられる。我々は哺乳類の栄養代謝において極めて重要な, インスリンとその下流分子に着目し味細胞の分化に対する影響を調べた。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。味蕾オルガノイドを用いた実験の結果, 高濃度のインスリンは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) の発現量を有意に減じることが明らかとなった。さらに, インスリンによって活性化し, 細胞分裂や生存の主要な調節因子である mechanistic target of rapamycin (mTOR) 経路を, 培地中にラパマイシン (mTORC1 阻害剤) を添加することで薬理的に阻害すると, 培地に加えたラパマイシン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 の発現量の有意な増加が見られた。

以上の結果は, インスリン-mTOR 経路が味細胞の分化/増殖調節に関わる可能性を示唆する。さらに現在検討中の因子や, in vivo での実験系で得られた結果との整合性等も合わせて紹介する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

MS1-2 The new experimental approach to understand the mechanism for taste cell differentiation/proliferation with using 3-D organoid culture

○Takai S¹, Watanabe Y^{1,2}, Margolskee RF³, Jiang P³, Ninomiya Y^{3,4}, Shigemura N^{1,4}

¹Sect Oral Neurosci; ²Sect Implant Rehabil Dent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ³Monell Chem Sense Ctr; ⁴R & D Ctr Five-Sense Dev, Kyushu Univ

Recently, leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor (Lgr5)-positive cells in circumvallate papillae trench area were defined as the taste stem cells and they support the intensive taste tissue turnover. These Lgr5-positive cells were capable of differentiating into all types of taste cells in 3-D organoid culture.

In this study, we explored the factors that may impact on taste cell differentiation/proliferation with using taste bud organoid system. We focused on insulin and its downstream molecules. In RT-PCR and immunohistochemical study, insulin receptor (IR) is broadly expressed in the taste buds. In taste bud organoid, the excessive concentration of insulin had suppressive effects on taste cell proliferation. 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 are activated by insulin and regulate cell proliferation, was expressed in the gustatory and non-gustatory epithelia, and Lgr5-positive taste stem cells. Application of mTORC1 inhibitor in organoid culture medium resulted in a concentration-dependent increase of taste cells in organoid colonies.

Altogether, insulin-mTOR pathway may regulate the differentiation/proliferation of taste cells.

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

MS1-3 マウス脂肪酸センサーの機能解析

○安松 啓子

東歯大 口科研セ

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 (グルタミン酸) 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。舌咽神経に関しては、記録した単一線維のうち WT マウスの約 7% が F-type だった。

本研究では脂肪酸応答への GPR40, GPR120 および CD36 の関与を検討した。GPR120-KO マウスでは鼓索、舌咽両神経において F-type がそれぞれ約 4%, 2% となり、リック測定行動実験により脂肪酸を他の味と区別できなくなる可能性が示唆された。次に 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。嗜好性に関与する S-, M-type 神経に複数の脂肪酸受容機構が関与することで、応答の duration が長くなることが示唆された。

以上の結果より、脂肪酸特異的神経と嗜好性味覚神経は、摂食に関連して異なる機能を持つ可能性が考えられ、本講演では摂食や嗜好に関する周辺の研究報告との繋がりについて議論したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

MS1-3 Taste of fatty acids: functional analysis of fatty acid sensors in mice

○Yasumatsu K

Tokyo Dent Junior Coll.

We previously reported that ~18% of fibers of the mouse chorda tympani (CT) nerve responded best to oleic acids (F-type) and that a half or more of sucrose- (S-type) or glutamate-best (M-type) fibers also responded to fatty acids. In the glossopharyngeal (GL) nerve, the percentage of F-type fiber was ~7%.

In the present study, we examined contribution of GPR40, GPR120 and CD36 in the responses to fatty acids. In GPR120-KO mice, the percentage of F-type fiber was ~4% and ~2% in the CT and GL respectively. The KO mice exhibited inability of discrimination fatty acids from other taste compounds in behavioral experiments. The potential contributions of GPR40 and CD36 were examined in the residual responses to fatty acids by using antagonists in the KO mice. 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 in the GL, suggesting contribution of these receptors to keep longer duration of responses for palatable taste information of fatty acid via GL nerve.

The differential roles of sensors or fatty acid-responding fibers will be discussed in terms of ingestion and palatability.

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

MS1-4 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¹¹生理研 生殖・内分泌系発達機構, ²東大 院農生科 生物機能開発化学

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という手法を用いて、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。

MS1-4 Genetic identification of sweet taste neurons in the mouse brainstem.○Nakajima K¹, Fu O¹, Iwai Y², Kondoh K¹, Misaka T², Minokoshi Y¹¹Div Endo Metab, Nat Inst Phys Sci; ²Dept App Bio Chem, Grad Sch Agri Life Sci Univ 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.

MS2-1 肥満・糖尿病とアルツハイマー病

○里 直行

長寿医療セ 分子基盤研究

肥満・糖尿病が認知症の促進因子であることが疫学的研究により支持されている。しかし、どのようなメカニズムで肥満・糖尿病が認知症を促進するのかは十分に明らかでない。我々は米国の臨床データベースを解析することによって、糖尿病による認知症促進が APOE 遺伝子型に依存することを示唆した。また肥満・糖尿病とアルツハイマー病のかけ合せマウスを用いた研究から、肥満・糖尿病は β アミロイドの存在下に神経変性を増悪させることが示唆され、その分子機序の解明を行っている。

具体的にはアルツハイマー病モデルマウスである Amyloid Precursor Protein (APP) マウスに *ob/ob* マウスを掛け合わせるにより肥満・糖尿病合併アルツハイマー病モデルマウスを作製し、その行動解析、免疫組織学的解析、蛋白解析、およびトランスクリプトーム解析を行っている。その結果、肥満・糖尿病とアルツハイマー病の病態に関連して変動する分子群が明らかになりつつある。現在はその分子群の病態への関与の解析を *in vitro* および *in vivo* で行っている。また肥満・糖尿病合併アルツハイマー病モデルにおいては、肥満・糖尿病からアルツハイマー病への病態修飾のみならず、逆の方向すなわち、アルツハイマー病が肥満・糖尿病の病態を、生命予後を含んで、増悪させることを見出しており、さらなる解析を進めている。また糖尿病およびアルツハイマー病の発症時期をコントロールして病態解析ができるように、時間・空間的に β アミロイドの発現を制御できるマウスを作成し、糖尿病発症後のアルツハイマー病発症について解析が可能となった。

将来的には β アミロイドやタウをターゲットにした先制医療や運動による認知症予防に加えて、肥満・糖尿病による認知症促進メカニズムの解明に基づく「認知症の創薬」を行っていく。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

MS2-1 Bidirectional interactions between obesity/diabetes and Alzheimer's disease

○Sato N

Dept Aging Neurobiol, Dev Adv Med Dementia, NCGG

Clinical studies have suggested that obesity/diabetes is associated with neurodegeneration and Alzheimer's disease (AD). However, the mechanisms underpinning this association have not been fully elucidated. We performed the gene expression analysis of *Amyloid Precursor Protein (APP)*; *ob/ob* mice, generated by crossing *APP* mice, which overexpress familial AD-linked *APP* mutation, and *ob/ob* mice, which are obese and mildly diabetic. Gene expression analysis showed the characteristic features of *APP*, *ob/ob* and *APP*; *ob/ob* mice.

We identified a cluster, where genes are only upregulated in *APP*; *ob/ob* mice, but not in either *APP* or *ob/ob* mice. It is also well known that both diabetes and AD reduces life expectancy. We found that *APPNL-L/wt* knock-in; *ob/ob* mice showed the shortest lifespan, compared to wildtype, *APPNL-F/wt* knock-in mice, and *ob/ob* mice. While diabetes and apolipoprotein E (*APOE*) are both significant risk factors for AD, it remains to be clarified how they interact each other to contribute to the risk of AD.

By reviewing the National Alzheimer's Coordinating Center (NACC) clinical records, we investigated whether diabetes affects cognitive decline depending on *APOE* genotype. Interestingly, diabetes was associated with earlier cognitive decline in *APOE2* and *APOE3* carriers, but not in *APOE4* carriers.

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

MS2-2 老いの入り“口”からアルツハイマー病の病因を読み解く

○松下 健二, 古川 匡恵, 黒澤 実愛, 四釜 洋介

長寿医療セ 口腔疾患

我が国において認知症対策は喫緊の課題であるが、最も頻度の高いアルツハイマー病 (AD) をはじめ、その病因は十分に解明されておらず、治療法も確立されていない。このような現状で、認知症の危険因子や発症・進行を抑制する因子を明らかにし、その情報を有効活用して対策を講じれば、認知症を予防できる可能性がある。咀嚼機能と認知機能とは相関することが古くから知られている。我々は、臼歯抜歯老齢マウスを解析した結果、認知機能の低下他の行動異常が認められるとともに、視床下部、海馬、大脳皮質等の細胞老化が分子レベルで観察されることを見出した。また近年、歯周病や歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. g.*) が認知機能や認知症に関わっているとする疫学データや動物実験等での検証結果が数多く報告されている。我々も、*P. g.* 感染により歯周病を発症した AD モデルマウスにおいて、認知機能の低下やアミロイド β タンパク質 ($A\beta$) の沈着が脳内で増加することを確認した。加えて、細菌毒素や炎症反応の増加が脳内でみられたことから、歯周病や歯周病原細菌の感染が AD を悪化させる可能性を指摘した。Jan Potempa らのグループは、AD 患者の脳で *P. g.* やその菌の毒素 gingipain が高頻度に検出されること、また gingipain を阻害することで AD の病態が改善される可能性を示した。現在、gingipain 阻害剤による AD 治療の臨床試験 (Phase II/III) が米国で開始されている。AD の病因論は大きなパラダイムシフトを迎えており、今後、AD 対策が大きく転換していく可能性がある。

本講演では、歯周病、口腔細菌、口腔機能と認知症・アルツハイマー病をキーワードとし、それらの関連性を総合的・統一的に解説する。加えて、そこから導き出される、健康寿命延伸のために必要な口腔の健康の重要性について考察したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

MS2-2 Deciphering the etiology of Alzheimer's disease from the mouth

○Matsushita K, Furukawa M, Kurosawa M, Shikama Y

Dept Oral Dis Res, NCGG

Although dementia control is an urgent issue in Japan, the etiology of dementia including Alzheimer's disease (AD), which is the most common cause of dementia, has not been fully elucidated and no cure has been established. If risk factors for dementia and factors that suppress its onset and progression could be identified, that information could be used effectively and it might be possible to prevent dementia and extend the healthy life span.

In this lecture, we use periodontal disease, oral bacteria, oral function and dementia / Alzheimer's disease as keywords, and we will explain their relationships, comprehensively. In addition, I would like to propose the importance of oral health that is necessary for the extension of healthy life expectancy.

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

MS2-3 三叉神経の神経変性とアルツハイマー病 - 歯の喪失がアルツハイマー病の進行を早めるメカニズム -

○後藤 哲哉

鹿大 院医歯 機能形態

アルツハイマー病の進行に関わる口腔領域の因子として指摘されているのは、主に歯周病と残存歯数である。残存歯数については咀嚼障害による栄養悪化、もしくは血流の低下によると考えられていたが、アルツハイマー病の病態である「急速で特定部位の神経細胞死の進行」に対する神経解剖学的な考察はあまりなされていなかった。一方、アルツハイマー病の危険因子で最も高いものは「老化」である。

そこで我々は三叉神経系の内、三叉神経中脳路核 (Vmes) に着目し、老化による神経変性、並びに歯の喪失 (抜歯) による Vmes の神経細胞死とアルツハイマー病の進行について検討した。老化に関しては、Vmes 神経細胞は三叉神経系での神経では最も顕著にアミロイド β ($A\beta$) を含むオートファゴゾームが認められ、加齢とともに増加した。 $A\beta$ はオートファゴゾームの膜上だけでなく内腔にも認められた。一方、歯の喪失によって三叉神経中脳路核の細胞死が認められた。三叉神経中脳路核のうち、比較的小型の細胞は歯根膜からの歯根膜感覚の入力を受けるが、抜歯によって一次ニューロンである Vmes 三神経細胞は神経変性並びに神経細胞死を生じた。高齢マウスにおいては Vmes 神経細胞死により多くの $A\beta$ が細胞外に放出されるが、Vmes の腹側近傍に存在する青斑核神経細胞は細胞毒性を持つ $A\beta$ により部分的な細胞死を生じた。青斑核はアルツハイマー病で神経細胞死が特に顕著に観察される海馬や大脳皮質神経細胞に投射しており、青斑核の神経細胞死によってこれら投射部位の神経細胞死が生じた。

このように、Vmes- 青斑核 - 海馬、大脳皮質の神経細胞死のカスケードがアルツハイマー病の進行を早めるものと考えられた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

MS2-3 Neurodegeneration of the Trigeminal Nerve and Alzheimer's Disease - a mechanism by which tooth loss accelerates the progression of Alzheimer's disease -

○Goto T

Dept Anat Oral Sci, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

Periodontal disease and the number of remaining teeth have been indicated as the risk factors in the oral region related to the progression of Alzheimer's disease (AD). It was thought that the number of remaining teeth was vaguely due to nutritional deterioration, but the neuroanatomical progression of AD is rapid and site specific. On the other hand, the highest risk factor for AD is "aging".

Therefore, we focused on the trigeminal mesencephalic nucleus (Vmes) of the trigeminal nervous system, and investigated the neurodegeneration due to aging, and the neuronal cell death of Vmes due to tooth loss (extraction) and the progression of AD. Regarding aging, Vmes neurons showed autophagosomes containing amyloid β ($A\beta$) most significantly in the nerves of the trigeminal nervous system, and increased with aging. $A\beta$ was found not only on the autophagosome membrane but also in the lumen. Among the Vmes neurons, relatively small cells receive periodontal sensory input from the periodontal ligament, but the tooth extraction caused neurodegeneration and neuronal cell death of Vmes neurons. In aged mice, Vmes neuronal cell death released a large amount of $A\beta$ extracellularly, whereas locus coeruleus neurons located near the ventral side of Vmes cause partial cell death due to cytotoxic $A\beta$. The locus coeruleus projects to hippocampus and cortical neurons in which neuronal cell death is particularly prominent in AD, and neuronal cell death in the locus coeruleus causes neuronal cell death at these projection sites.

Thus, the cascade of neuronal cell death in Vmes - locus coeruleus - hippocampus and cerebral cortex may accelerate the progression of AD.

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

MS3-1 歯数制御による歯の再生治療薬の開発

○高橋 克

京大 院医 口外

歯数制御による歯の再生を目指して研究開発を行ってきました。過剰歯を有する USAG-1 (BMP / Wnt のアンタゴニスト) 欠損マウスを解析することにより、標的分子を同定するとともに 1 つの分子により歯を増やすこと、つまり歯を再生できる事を明らかにしてきました。各種先天性無歯症モデルマウス (Runx2, Msx1, Eda1, Wnt10a 欠損マウス) と過剰歯モデルマウスの USAG-1 欠損マウスの交配により、歯の形成が回復することを見出しました。次に USAG-1 stealth siRNA 含浸カチオン化ゼラチンの局所投与により、genetic linkage に加えて、USAG-1 の局所抑制の有効性を検討しました。E10 野生型マウス下顎腎被膜下移植の系において、Runx2 stealth siRNA 投与による歯数の減少が、USAG-1 stealth siRNA 同時投与により回復することを確認しました。

そこで、活性の確認された USAG-1 組み換え蛋白を抗原として、USAG-1 中和抗体を作製しました。1,037 個の候補抗体の中から、直接法・サンドウィッチ ELISA, WNT レポーターアッセイ, BMP ALP アッセイにて、6 個の中和抗体を絞り込むことができました。BMP/WNT signaling を活性化し、エピトープビニングやエピトープマッピングを用いて抗体の認識部位の違いにより Group1, 2 の 2 種類に分類できることを明らかにしました。6 個全ての USAG-1 中和抗体は、先天性無歯症モデル Eda 欠損マウスにおいて、単回全身投与することにより、無歯症が回復することを見出しました。更にそのうち 2 個の抗体は、野生型マウスに完全な形の新しい歯を再生できることを見出しました。現在、ヒトの基本歯式に近い各種非齧歯類モデル動物として、スンクス, フェレット, 先天性無歯症ビーグル犬を用いてヒト化する USAG-1 中和抗体の絞り込みを行っているところです。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

MS3-1 Development of tooth regenerative medicine by controlling of the number of teeth.

○Takahashi K

Dept Oral Maxillofac Surg, Kyoto Univ Grad Sch Med

By analyzing USAG-1 (BMP / Wnt antagonist) -deficient mice with supernumerary teeth, we have shown that a single molecule can increase the number of teeth. Tooth formation is restored by mating various congenital tooth agenesis model mice (Runx2, Msx1, Eda1, Wnt10a deficient mice) with USAG-1 deficient mice of supernumerary tooth model mice. We investigated the effectiveness of local suppression of USAG-1 by topical administration of USAG-1 stealth siRNA with cationic gelatin. It was confirmed that the decrease in the number of teeth due to Runx2 stealth siRNA administration was restored by simultaneous administration of USAG-1 stealth siRNA.

USAG-1 neutralizing antibody was made from 1,037 candidate antibodies, 6 neutralizing antibodies could be narrowed down by the direct/sandwich ELISA, Wnt reporter assay / BMP ALP assay. It was revealed that there are neutralizing antibodies that activate BMP / WNT signaling. All six USAG-1 neutralizing antibodies were found to recover the missing teeth by a single systemic administration in Eda-deficient mice. Two of these antibodies were found to be able to regenerate new teeth in wild-type mice. We are narrowing down the USAG-1 neutralizing antibody that is humanized by using suncus, ferret, and beagle with congenital tooth agenesis as various non-rodent model animals.

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

MS3-2 3次元唾液腺組織の作出とその応用

○美島 健二

昭大 歯 口腔病理

我が国における口腔乾燥症の潜在患者数は、約800万人から3,000万人とも推定されることから、その病態の解析や治療薬の開発は喫緊の課題である。これまで、口腔乾燥症の病態解析には、唾液腺機能障害を呈する動物モデルや唾液腺株化細胞を用いた2次元培養法の応用がなされてきた。しかしながら、動物モデルでは、時間面、費用面の問題や薬剤スクリーニングには不向きであるなどの問題点が指摘されている。また、2次元培養法においても、細胞間の複雑な相互作用を再現することが困難で、必ずしも生体内の病態を再現していないとの報告もなされている。このことから、当該モデルに代わるあらたな解析モデルの作出が望まれていた。近年、組織幹細胞や多能性幹細胞から3次元的に誘導されたオルガノイドは、極めて生体内の組織に近い性格を有しており、新たな病態解析モデルとして応用がなされている。

しかしながら、唾液腺オルガノイドに関する報告はなく、我々はその作出を試みた。すなわち、マウスの唾液腺発生過程の解析により、唾液腺原基の形成に重要な2つの遺伝子 (Sox9, Foxc1) を同定した。さらに、これらの遺伝子をES細胞から誘導した口腔粘膜上皮に遺伝子導入することにより、唾液腺オルガノイドの作出に成功した。作出した唾液腺オルガノイドは、マウス口腔内に同所性に移植することにより唾液を分泌することが確認され、生体内の唾液腺の動態をよく反映したものと考えられた。

本オルガノイドは、新たな細胞治療のソースとして再生医療への応用はもとより、唾液腺発生・再生段階の解明、疾患の病態解明あるいは新たな創薬への強力な技術基盤になり得ると考えられる。また、これらの技術を応用することによりヒトiPS細胞から唾液腺オルガノイドを作出し、口腔乾燥症患者の病態解析や治療へと応用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。

MS3-2 Generation of three-dimensional salivary glands and their application

○Mishima K

Div Oral Pathol, Showa Univ Sch Dent

To clarify the detailed mechanisms of salivary gland hypofunction, animal models and two-dimensional cell culture system have been used. However, these models are not necessarily sufficient enough to reproduce in vivo pathophysiology. Organoids have been recently reported to retain physiological functions similar to those of the original organs.

Here we tried to generate salivary gland organoids derived from ES cells. We successfully identified two transcription factors, Sox9 and Foxc1, responsible for the differentiation of mouse embryonic stem cell-derived oral ectoderm into the salivary gland rudiment (iSG) in an organoid culture system. Following the orthotopic transplantation of iSG into mice whose salivary glands have been removed, iSG not only 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. We are also engaged in generating human iPS cell-derived iSG, which is applicable to drug development for patients with dry mouth.

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

MS3-3 マウス味蕾におけるプロトカドヘリン 20 の発現

廣瀬 文恵^{1,2}, 高井 信吾¹, 高橋 一郎², ○重村 憲徳^{1,3}

¹九大 院歯 口腔機能解析, ²九大 院歯 歯科矯正, ³九大 五感応用デバイス研究開発セ

味覚の障害は、栄養障害や食の楽しみの喪失といった Quality of Life (QOL) の低下に直結する。5 基本味 (甘・苦・酸・塩・うま味) は、それぞれ味蕾内の異なる味細胞で受容され、味神経を経由して中枢へ伝達される。味細胞の寿命は約 10 日間と短く、味蕾内で次々に入れ替わっているにも関わらず我々の味覚は常に一定に保たれている。また、各基本味に対する味細胞の味覚応答特性と味神経の味覚応答特性は非常に近似している。これらのことは、味細胞と味神経との間に味質選択的なシナプス誘導機構が存在する可能性を強く示唆する。

本研究では、この未知の味質特異的な味細胞-味神経間接着機構に関与する分子を同定することを目的とした。はじめに、C57BL/6 マウスの味蕾および味神経節から mRNA を抽出し、GeneChip 解析を行なった。この結果、細胞接着因子である Cadherin (Cdh) family の 14 種類が両組織に共通して発現していることを見出した。次に、RT-PCR, *In situ* hybridization および免疫組織学的解析の結果、これらの中で protocadherin-20 (Pcdh20) が味蕾内で甘味およびうま味受容体の構成成分 (甘味・うま味細胞マーカー) である Taste receptor type1 member3 (Tas1R3) と共発現していることが分かった。その他の苦味細胞マーカーである gustducin や酸味細胞マーカーである carbonic anhydrase 4 との共発現は認められなかった。また、マウス生後 5 から 8 日目における発生期の味蕾を解析した結果、Pcdh20 の発現は Tas1R3 の発現後に認められた。

以上のことから、Pcdh20 は分化した甘味および/またはうま味細胞に発現することで味細胞—味神経特異的な接着を誘導し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。

MS3-3 Expression of protocadherin-20 in mouse taste buds

Hirose F^{1,2}, Takai S¹, Takahashi I², ○Shigemura N^{1,3}

¹Sect Oral Neurosci; ²Sect Orthodont Dentofac Orthoped, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ;

³R & D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ

Taste information is detected by taste cells and then transmitted to the brain through the taste nerve fibers. According to our previous data, there may be specific coding of taste quality between taste cells and nerve fibers. However, the molecular mechanisms underlying this coding specificity remain unclear.

The purpose of this study was to identify candidate molecules that may regulate the specific coding. GeneChip analysis of mRNA isolated from the mice taste papillae and taste ganglia revealed that 14 members of the cadherin superfamily, which are important regulators of synapse formation and plasticity, were expressed in both tissues. Among them, protocadherin-20 (Pcdh20) was highly expressed in a subset of taste bud cells, and co-expressed with taste receptor type 1 member 3 (Tas1R3, a marker of sweet- or umami-sensitive taste cells) but not gustducin or carbonic anhydrase-4 (markers of bitter/sweet- and sour-sensitive taste cells, respectively) in circumvallate papillae. Furthermore, Pcdh20 expression in taste cells occurred later than Tas1R3 expression during the morphogenesis of taste papillae.

Thus, Pcdh20 may be involved in taste quality-specific connections between differentiated taste cells and their partner neurons, thereby acting as a molecular tag for the coding of sweet and/or umami taste. (Sci Rep 2020; 10(1): 2051)

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

MS4-1 我々が飲み込んでいる口腔常在微生物叢の構成と健康状態との関連

○竹下 徹

九大 院歯 口腔予防

我々は常時膨大な数の口腔常在微生物を飲み込んでいる。これらの微生物は健常者では食道を通り胃に運ばれるが、嚥下機能の低下した高齢者ではしばしば気管に流入する。こうして引き起こされる誤嚥性肺炎は高齢者の死亡原因の大きな割合を占めており、効果的な口腔常在微生物叢の制御アプローチの確立が待たれている。さらに近年健常人においても微小誤嚥が常時起こっており肺常在微生物叢の構成に大きく寄与していることが報告され呼吸器の健康状態への影響が注目を集めている。唾液とともに飲み込まれている微生物群の主要な供給源は舌苔である。

我々は施設入所高齢者の舌苔微生物叢の調査から主要な常在細菌の構成バランスの差異が誤嚥性肺炎の発症リスクと関わることを明らかにした。さらに、地域在住高齢者における調査で欠損菌数および菌種多様性が多い者ほど肺炎リスクの高い舌苔微生物叢であることを報告し、菌の状態を維持することが肺炎予防に有効である可能性を指摘した。また、経管栄養施行高齢者や造血幹細胞移植患者の舌背には通常の口腔には見られない菌種が多数検出されることを明らかにしている。

本講演では飲み込まれている口腔常在微生物群の構成と健康との関連についてこれまでの我々の分子疫学的研究によって得られてきた知見を紹介する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

MS4-1 Relationship between ingested oral microbiota and health status

○Takeshita T

Sect Prevent Dent Pub Health, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Oral cavity is colonized by a diverse array of numerous microorganisms constituting indigenous microbiota, which are constantly ingested with saliva. These organisms are normally transported into stomach, whereas swallowing impairments with aging result in aspiration into respiratory tract and subsequent pulmonary infection. Aspiration pneumonia is a major cause of death in elderly adults. Furthermore, recent studies demonstrated that these organisms largely contribute to the construction of lung microbiota via microaspiration and respiratory health even in healthy individuals. The understanding and regulation of ingested oral microbial population is required and attracts attention.

This lecture summarizes current information on the ingested oral microbial population and their association with health status based on our previous epidemiological studies.

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

MS4-2 消化管内細菌叢がもたらす生体恒常性と疾患○福田 真嗣¹⁻⁴¹慶応大 先端生命研, ²神奈川県立産技総研, ³筑波大 医, ⁴メタジェン

ヒトの消化管内にはおよそ1,000種類で40兆個にもおよぶとされる細菌群が生息しており、これらの集団（細菌叢と呼ぶ）は宿主細胞と密接に相互作用することで、複雑な微生物生態系を形成している。特に腸内には多種多様な細菌が生息しており、産生する栄養素や代謝物質、さらにはその構成成分を介してヒトの健康維持に寄与することが知られている。一方、薬剤摂取やストレス、あるいはライフスタイルや食習慣の変化など、様々な環境要因により腸内細菌叢のバランスが崩れると、大腸癌や炎症性腸疾患といった腸そのものの疾患に加えて、自己免疫疾患や代謝疾患といった全身性疾患に繋がることも報告されている。従ってその重要性から、腸内細菌叢は異種生物で構成される体内における「もう一つの臓器」とも捉えられる。

われわれはこれまでに、腸内細菌叢の遺伝子情報と代謝動態に着目したメタボロゲノミクスアプローチを開発し、腸内細菌叢から産生される短鎖脂肪酸である酢酸や酪酸が、それぞれ腸管上皮細胞のバリア機能を高めて腸管感染症を予防することや、免疫応答を抑制する制御性T細胞の分化誘導を促進することで、大腸炎を抑制することを明らかにした。他にも、腸管感染症の予防には腸内細菌叢由来コハク酸を介した腸内細菌叢の成熟化が重要であることや、早期大腸がん患者の便から口腔内細菌が特徴的に検出されることを見出し、それらに基づく早期大腸がん診断基盤技術も開発した。このように腸内細菌叢やその代謝物質が生体恒常性維持に重要な役割を担うことが明らかとなったことから、本研究成果を社会実装する目的で、慶應義塾大学と東京工業大学とのジョイントベンチャーとして株式会社メタジェンを設立した。

本発表では、「層別化」をキーワードに、個々人で異なる腸内環境の特徴を見出し、それらに基づく食習慣の改善や適切なサプリメント開発、さらには創薬など、腸内環境に基づく新たな健康維持、疾患予防・治療基盤技術の創出に向けたわれわれの取り組みについて紹介する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

MS4-2 Shedding light on the function of commensal microbiota in health and disease○Fukuda S¹⁻⁴¹Inst Adv Biosci, Keio Univ; ²KISTEC-KAST; ³Univ of Tsukuba Sch Med; ⁴Metabologenomics Inc

The gut microbiota forms a highly complex ecological community together with host intestinal cells. The so-called gut ecosystem has a profound influence on human physiology, immunology, and nutrition. It has been reported that imbalance in the structure of gut ecosystem could be a risk factor in human disorders including not merely gut-associated disorders, but also systemic diseases. However, the molecular mechanisms of the host-microbial crosstalk remain obscure.

To tackle this issue, we firstly established a highly integrated metabolomics-based approach, metabologenomics, and found that acetate produced from carbohydrate metabolism by probiotic bifidobacteria largely contributes to the protection of mice from enterohaemorrhagic *E. coli* O157:H7 lethal infection through enhancement of gut epithelial barrier function. In addition, we found that butyrate produced from dietary fiber metabolism by microbial order Clostridiales progresses the induction of regulatory T cell differentiation from naïve T cells through epigenetic modification, which suppress colonic inflammation. Moreover, metabologenomic approach revealed that succinate produced from neonate gut microbiota mediates Clostridiales colonization followed by protection against enteropathogenic infection. In a large cohort study of colorectal cancer patients together with fecal metabologenomic approach, we found that oral bacteria were specifically detected in the feces of colorectal cancer patients and the fecal metabologenomic profiles shift from precursor polyps to colorectal carcinoma.

Taken together, gut microbiota-derived metabolites are considered to be crucial factors for understanding human health and disease.

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

MS4-3 レンサ球菌感染症の重症化機構の解明 ～新たな感染制御法の開発を目指して～

○住友 倫子

阪大 院歯 口腔細菌

インフルエンザは急性の呼吸器感染症であるが、特に高齢者では、肺炎球菌性肺炎の合併による死亡者の増加が社会的問題になっている。インフルエンザに続発する細菌性肺炎の発症を助長する因子として、ウイルス感染による宿主の細菌感染感受性の亢進が挙げられてきた。しかし、病因論に基づく有効な予防・治療法は確立されていない。

我々は、A型インフルエンザウイルス（IAV）感染がもたらす気道におけるストレス応答分子群の表在化に着目し、ウイルス感染肺組織への細菌の定着ならびに病態形成との関連を解明するとともに、新規感染制御法の確立に向けた標的分子としての有効性を検証した。IAV感染上気道組織では、上皮細胞表層へ異所性に誘導される小胞体局在シャペロン Glycoprotein 96（GP96）が肺炎球菌の下気道組織への定着を亢進させ、二次性細菌性肺炎の増悪因子として機能することを明らかにした。また、GP96 シャペロン機能の阻害により、細菌性肺炎の発症と病態形成は抑制された。さらに、IAVに感染した肺胞上皮細胞では、細胞間接着分子群の分解や発現の抑制を担うカルパイン、ADAM10、および Snail1 の活性化により、上皮バリアの機能障害が誘導されることを解明した。

本シンポジウムでは、インフルエンザに続発する細菌性肺炎の重症化機構に関する我々の最新の知見と新規感染制御法の開発に向けた戦略を紹介したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

MS4-3 Elucidation of mechanism underlying streptococcal infection exacerbation for development of preventive and therapeutic strategies

○Sumitomo T

Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Secondary bacterial pneumonia caused by *Streptococcus pneumoniae* following an influenza infection is associated with considerable rates of morbidity and mortality in elderly individuals. Although it is generally accepted that a preceding Influenza A virus (IAV) infection leads to increased susceptibility to secondary bacterial infection, details regarding the pathogenic mechanism during the early stage of superinfection remain elusive.

Recently, we focused on the interaction of IAV-infected cells and bacteria, which revealed that human epithelial cells infected with IAV exhibit a cell surface display of GP96, an endoplasmic reticulum chaperon. Notably, extracellular GP96 was shown to impart efficient adherence for secondary infection by *S. pneumoniae*, indicating it to be a useful target for development of therapeutic strategies for patients with superinfection. Additionally, we found that IAV infection induced activation of calpain, ADAM10, and Snail1, responsible for degradation and transcriptional repression of junctional proteins in the host, resulting in dysfunction of the pulmonary epithelial barrier.

In this symposium, we will introduce our recent findings regarding the mechanism underlying viral-bacterial synergy related to disease progression as well as development of promising therapeutic strategies.

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

MS5-1 リソソームとアレルギー疾患制御○門脇 知子¹, 山口 優², 筑波 隆幸²¹長大 院医歯薬 フロンティア口腔科学, ²長大 院医歯薬 歯科薬理

エンドソーム・リソソームは細胞内分解を担うオルガネラと認識されてきたが、近年では、分泌やシグナル伝達の間として重要な役割を果たしていることが明らかになりつつある。エンドソーム・リソソームにおいては、時間的・空間的に制御された小胞輸送に伴って、細胞の分化、増殖、形態変化、運動など、多様な細胞応答が制御されている。この小胞輸送や膜輸送を制御する主要な因子として Rab タンパク質が知られている。一般的な Rab タンパク質は低分子量 G タンパク質であり、特定のオルガネラに局在してエフェクターと呼ばれる特異的な結合分子をリクルートし、オルガネラの機能を制御する。我々が見出した Rab44 は一般的な Rab とは異なり、約 1,000 アミノ酸から構成され、Rab ドメインの他に複数の機能ドメインを有する高分子量の Rab タンパク質である。

我々は、当初、マクロファージから破骨細胞への分化において発現レベルが上昇する遺伝子群を探索する過程で、Rab44 を見出した。その後の解析によって、マウスにおける全身的分布として Rab44 は骨髄に多く発現し、骨髄細胞からマクロファージ、好中球、樹状細胞などの成熟免疫細胞に分化誘導すると発現レベルが低下するものの、マスト細胞に分化させるとより高い発現量を示すことがわかった。Rab44 は、静止状態のマスト細胞ではリソソームを取り囲むように局在するが、活性化刺激によって細胞膜およびエンドソーム、細胞質に局在を変化させる。また、Rab44 を欠損させたマスト細胞では、リソソーム酵素の分泌、すなわち脱顆粒が抑制されていた。CRISPR/Cas9 システムにより作製した Rab44 ノックアウトマウスは野生型マウスとほぼ同様に生育するが、DNP-HSA あるいは OVA を投与してアレルギーを誘発すると、野生型に比べてアナフィラキシー反応が減弱した。この時、血中ヒスタミン濃度も低下していた。このように Rab44 はリソソームの機能を制御し、アレルギーなどの炎症応答を制御することが示された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

MS5-1 Lysosomal trafficking involved in allergic responses○Kadowaki T¹, Yamaguchi Y², Tsukuba T²¹Dept Front Oral Sci; ²Dept Dent Pharmacol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Endosomes and lysosomes play important roles in various cellular responses such as cell differentiation, proliferation, morphological change, and motility in association with vesicular transport. Rab proteins efficiently regulate the intracellular membrane transport. Although the majority of these proteins are small GTPases, Rab44 is an atypical Rab GTPase with high molecular weight, and it negatively regulates osteoclast differentiation. Rab44 was highly expressed in the bone marrow; however, its expression level decreased during differentiation into mature immune cells such as macrophages, neutrophils, and dendritic cells. Moreover, a higher expression level was confirmed in the mast cells. Rab44 localized around lysosomes in the mast cells, but upon activation its localization changed to the plasma membrane, endosomes, and cytoplasm. *Rab44*^{-/-} mice generated by clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/CRISPR associated protein 9 (Cas9)-mediated genomic editing presented reduced anaphylactic responses *in vivo*. Furthermore, Rab44-deficient mast cells exhibited reduced FcεRI-mediated β-hexosaminidase and histamine secretion *in vitro*.

Thus, it was revealed that Rab44 regulates the lysosomal functions closely associated with inflammatory responses such as allergy.

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

MS5-2 破骨細胞における細胞内輸送タンパク質 Rab ファミリーの役割

○岡元 邦彰¹, Tran Tien Manh¹, Wei Penggong¹, Feng Yunxia¹, 奥舎 有加^{1,2}

¹岡大 院医歯薬 歯科薬理, ²ハーバード大 医 分子細胞生物

Rab タンパク質は, Ras, Rho/Rac, Rab, Arf, Ran の5つの Ras スーパーファミリーに属する低分子量 GTP 結合タンパク質で, GTP を結合した活性型と GDP を結合した不活性型とを交換することで小胞輸送を制御する分子スイッチとして機能している. Ras スーパーファミリーの中でも, Rab タンパク質は最も多いファミリーを形成しており, ヒトでは, サブタイプも入れると 60 種類以上存在しており, それぞれが決まったオルガネラ間の膜輸送を制御している. 破骨細胞においても同様であると考えられ, 様々な Rab タンパク質が発現しているが, 詳細はまだ不明なことが多い.

そこで, 我々は, Rab タンパク質の中でも, 酵母からヒトまで保存されている Rab11 に着目し, 解析を行った. Rab11 は主にエンドソーム小胞に局在しており, 細胞内と細胞表面の受容体などのリサイクリングやタンパク質のエクソサイトーシスなどの分泌機構に関与している非常に重要なタンパク質です. Rab11 を抑制すると, RANK や c-Fms などの受容体の細胞表面発現が増し, 破骨細胞が大きくまた数も増加した. また, 破骨細胞におけるマスター遺伝子である NFATc1 の核内移行も増加した. 逆に Rab11 の発現を促進させると, RANK や c-Fms は速やかにリソソームへ運ばれ分解され, NFATc1 の核内移行も減少し, 破骨細胞は小さくまた数も減少した.

これら結果は, 破骨細胞形成において, Rab11 は破骨細胞の形成を負に制御していることを示唆している.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

MS5-2 The inhibitory role of Rab11 in osteoclastogenesis

○Okamoto K¹, Tran TM¹, Wei P¹, Feng Y¹, Okusha Y^{1,2}

¹Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci; ²Div. Mol. Cell. Biol., Harvard Med Sch

Rab GTPases constitute the largest family within the superfamily of GTPase proteins categorized into five sub-families including Ras, Rho/Rac, Arf, Ran and Rab. In human, Rab GTPases comprising about 70 members regulate various steps of membrane trafficking such as, for instance, membrane identity, vesicle budding, uncoating, motility and fusion amongst subcellular organelles moving along actin and tubulin networks. Of which, Rab11 abundant in endocytic recycling compartments was engaged in either recycling cargos including surface receptors to plasma membrane or releasing cargos to the exterior of cells via the process of exocytosis. Nonetheless, biological functions of Rab11 on regulating osteoclastogenesis have been completely obscure.

In the studies, we unveiled Rab11 (1) was up-regulated at late stage of osteoclast differentiation, (2) negatively regulated the surface levels of c-Fms and RANK receptors, thereby abolishing NFATc-1 upstream signaling cascades through the loss- and gain- of- Rab11 expression experiments, and (3) ameliorated the lysosome-mediated proteolysis of c-Fms and RANK receptors via the axis of early endosomes-late endosomes-lysosomes.

In conclusion, our observations substantially proved Rab11 served as an inhibitor in osteoclastogenesis.

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

MS5-3 骨代謝疾患とドラッグリポジショニング研究

○飯村 忠浩

北大 院歯 薬理

本セミナーでは、骨代謝疾患とドラッグリポジショニングに関する、私たちの近年の研究成果である以下2つのトピックを紹介し、議論の一助にしたいと思います。

トピック1：HIV治療薬と骨代謝調節

トピック2：骨粗鬆症治療薬と骨格痛

参考文献

1) The HIV co-receptor CCR5 regulates osteoclast function. Lee JW, Hoshino A, Inoue K, Saitou T, Uehara S, Kobayashi Y, Ueha S, Matsushima K, Yamaguchi A, Imai Y, Iimura T. Nat Commun. 2017 Dec 20;8(1):2226. doi: 10.1038/s41467-017-02368-5.

2) Teriparatide relieves ovariectomy-induced hyperalgesia in rats, suggesting the involvement of functional regulation in primary sensory neurons by PTH-mediated signaling. Tanaka T, Takao-Kawabata R, Takakura A, Shimazu Y, Nakatsugawa M, Ito A, Lee JW, Kawasaki K, Iimura T. Sci Rep. 2020 Mar 24;10(1):5346. doi: 10.1038/s41598-020-62045-4

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

MS5-3 Metabolic bone diseases and drug repositioning researches

○Iimura T

Dept Pharmacol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

In this seminar, I will introduce two of our recent research topics, and hopefully stimulate our discussion.

Topic 1) Anti-HIV drug and bone metabolism

Topic 2) Anti-osteoprotic drug and skeletal pain

References

1) The HIV co-receptor CCR5 regulates osteoclast function. Lee JW, Hoshino A, Inoue K, Saitou T, Uehara S, Kobayashi Y, Ueha S, Matsushima K, Yamaguchi A, Imai Y, Iimura T. Nat Commun. 2017 Dec 20;8(1):2226. doi: 10.1038/s41467-017-02368-5.

2) Teriparatide relieves ovariectomy-induced hyperalgesia in rats, suggesting the involvement of functional regulation in primary sensory neurons by PTH-mediated signaling. Tanaka T, Takao-Kawabata R, Takakura A, Shimazu Y, Nakatsugawa M, Ito A, Lee JW, Kawasaki K, Iimura T. Sci Rep. 2020 Mar 24;10(1):5346. doi: 10.1038/s41598-020-62045-4.

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

IRS-1 口腔がんの早期治療のための発がん・転移のリアルタイムモニタリング：臨床の立場から

○杉浦 剛

鹿大院医歯 顎顔面疾患制御

がん組織は多様な細胞集団から形成されており、可塑性をもち、治療の時間軸によって大きく変化しており、現状ではこれを診断することはできない。

我々は診断における時間軸を重視し、口腔癌の発症前から発癌、切除後の再発転移をリアルタイムに精密に診断し、治療を開始することをコンセプトに、非侵襲的精密診断法の開発を行っている。本シンポジウムでは患者の時間軸を重視した以下の口腔癌精密診断と今後の可能性について報告する。

1. うがい液による口腔潜在的悪性疾患 (OPMDs) および口腔癌の超早期診断

口腔癌は希少がんであり、がん検診にはそぐわないことが知られている。しかしながら早期診断は現状でも治療成績を向上させる有効手段である。そこで日本人における保有率が2.5%とされるOPMDsも検索対象として、その超早期診断方法を開発した。うがい液から口腔剥離細胞を回収し、剥離細胞のDNAメチル化を指標として口腔癌、OPMDsの診断を行うことが可能であった。

2. 血清 miRNA をバイオマーカーとする口腔癌のリアルタイムモニタリング

癌由来の遺伝子が血中を循環していることが知られており、診断への応用が報告されている。口腔癌においても数種のmiRNAが特異的に量的変化をきたすことが確認され、血中miRNAによる口腔癌の存在診断が可能であった。術後補助療法の効果モニタリングや再発転移のモニタリングに応用可能と考えられた。

3. 口腔癌循環癌細胞の分離によるリアルタイムシングルセル解析

がんゲノム医療が実用化され、NGSを活用したオンコパネルによる遺伝子診断が実用化されているが、問題点はリアルタイム診断でないことである。前述のように癌細胞は可塑性で常に進化しているため、再発転移時にリアルタイムシングルセル解析を行い治療に反映させることを想定して現在システムの開発を行っている。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

IRS-1 Real time monitoring for early detection of oral cancer carcinogenesis and metastasis: From clinical insight

○Sugiura T

Dept Maxillofac Diag Surg Sci, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

Cancer tissue consist of diverse cell populations and shows dynamic changes in time axis of patient's status. It is quite important information for carcinogenesis, recurrence and metastasis treatment. However, to date, there is no solution for this. We are trying to develop diagnostic approach for real time precision diagnosis and treatment as indicated below;

1. Early detection of oral cancer and oral potentially malignant disorders (OPMDs) using oral rinse samples. To date, early detection by oral screening is the only way for improving oral cancer treatment. We established the 'super' early non-invasive method for oral cancer and OPMDs using oral rinse samples. Detection of DNA methylation pattern from oral rinse sample enables to diagnose OPMDs and oral cancer with high accuracy.

2. Real time monitoring of oral cancer using serum microRNA as a cancer biomarker.

3. Real time single cell analysis by isolating circulating tumor cells (CTCs).

Next we are trying to establish real time monitoring methods for oral cancers after the primary treatment. These liquid biopsy methods using serum samples enable cancer metastasis detection and cancer real time gene profiling.

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

IRS-2 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¹, 白銀 陽一郎^{1,2}, 廣瀬 勝俊¹, 佐藤 淳¹, 豊澤 悟¹

¹阪大 院歯 口腔病理, ²阪大 院歯 義歯・高齢

癌組織は上皮細胞である癌細胞だけでなく、線維芽細胞、血管、炎症細胞といった様々な間質細胞により構成され、それら間質成分は腫瘍微小環境と呼ばれている。その中でも、癌組織中の血管は、酸素や栄養を循環させることで癌の進展や維持に関わると考えられ、持続的な血管新生は浸潤癌の特徴の一つと言われている。これまでも、口腔癌の血管に関して様々な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、我々は、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、舌癌の発生過程における血管について、形態学的、免疫組織学的な解析を行ってきた。4NQO 発癌モデルマウスにおいて、継時的に進行する、上皮異形成、上皮内癌、扁平上皮癌（浸潤癌）の各段階の病変において血管密度を計測したところ、病変の進行に伴い血管密度が増加していた。また、血管の走行・構造を形態学的に解析したところ、上皮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ることを見出した。さらに、血管内皮細胞増殖を検討したところ、浸潤癌の癌間質において、顕著な血管内皮細胞の増殖を伴う血管が確認された。発癌過程における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、上皮異形成から上皮内癌の段階で、異型上皮細胞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た。その一方で、浸潤癌の段階では、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。

これまでの癌研究は、ヒト組織を用いた研究や、ヒト癌細胞を用いた研究が主体を占めるが、発癌過程の解析、特に前癌病変や早期癌の研究は困難である。マウス発癌モデルの有用性ととも、我々の新しい挑戦について紹介したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

IRS-2 Alteration of blood vessels during the tongue cancer development in 4NQO-induced mouse carcinogenesis model

○Usami Y¹, Shirogane Y^{1,2}, Hirose K¹, Sato S¹, Toyosawa S¹

¹Dept Oral Pathol; ²Dept Prosthodont Gerodont, Osaka Univ Grad Sch Dent

Carcinomas are complex tissues composed of malignant epithelial cells and surrounding stroma such as fibroblasts, blood vessels, infiltrating immune cells. Of these stromal elements, formation of new blood vessel network, a process called angiogenesis, is thought to be one of the crucial hallmarks of cancer. Although, altered blood vessels in cancer tissue has been extensively investigated in many human tumors, the blood vessel alteration during the multistep carcinogenesis of tongue squamous cell carcinoma is still unclear.

To reveal when and how the blood vessels are modified during the processes of carcinogenesis, we have been working with 4-Nitroquinoline 1-oxide (4NQO)-induced mouse oral carcinogenesis model, which allow us to obtain the samples of each pathological stages (epithelial dysplasia, carcinoma *in situ*, and squamous cell carcinoma) from the mouse with same genetic and environmental factors.

In this talk, we will present our recent findings regarding the blood vessel alterations during multistep tongue carcinogenesis on our mouse oral carcinogenesis model. Also, we want to discuss the advantage of mouse carcinogenesis model on cancer research, especially in the field of oral pre-malignant and early cancer research.

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

IRS-3 口腔扁平上皮癌における増殖および分化転換の新規分子基盤の解明

○藤井 慎介, 清島 保

九大 院歯 口腔病理

口腔内に発生する悪性腫瘍は、その90%が扁平上皮癌である。他の癌腫では、腫瘍形成の発生機序に關与する遺伝子変異等を標的とする分子標的薬が開発され、高い治療成績を収めている。一方、口腔扁平上皮癌では治療標的となる分子基盤が不明であり、癌の発生の分子基盤を標的とする新規治療法の開発が待望されている。

本シンポジウムでは、①癌の発生に伴って癌周囲に触れる硬結(細胞外環境の変化)が腫瘍形成に与える影響、および②悪性度の高い腺扁平上皮癌においてDNAメチル化が分化転換に与える影響という二つの私共の最近の知見について紹介したい。

①臨床的に、腫瘍が形成されると腫瘍周囲に硬結を触れる。Transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4)は Ca^{2+} 透過性の高い非選択的陽イオンチャネルであり、機械刺激を感知する受容器である。私共は、口腔扁平上皮癌におけるTRPV4の高発現は Ca^{2+} の細胞内流入に關与するだけでなく、細胞外環境を認識してCaMKII/AKTの活性化を介して細胞増殖を制御することを見出した。

②腺扁平上皮癌は同一癌病巣に扁平上皮癌様組織と腺癌様組織を伴う臨床的に悪性度の高い癌であるが、その由来および特徴は不明である。私共が最近経験したヒト病理組織標本、および細胞株を用いた研究の結果から、転写因子を介したDNAの低メチル化が扁平上皮癌様細胞組織から腺癌様組織への転換、および悪性化に關与することが明らかとなった。即ち、DNAメチル化の変化が悪性化に關与する可能性が示唆された。

本シンポジウムでは、病理組織標本の検討から培養細胞を用いて腫瘍形成の分子基盤を解明するアプローチについて議論したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

IRS-3 Clarification of novel molecular mechanism in cell proliferation and transdifferentiation of oral squamous cell carcinoma

○Fujii S, Kiyoshima T

Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Oral squamous cell carcinoma (OSCC) arising from the mucosal epithelium accounts for more than 90% of oral cancers. To date, genetic mutations of cancer-related genes, which are responsible to OSCC tumorigenesis and could be molecular targets of anti-tumor therapy for OSCC, have not been reported. Here, we would like to present and discuss our data showing the effect of extracellular environments on OSCC tumorigenesis and putative mechanism of squamous cellular transdifferentiation into glandular cell.

Transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4), a Ca^{2+} -permeable nonselective cation channel, has been reported to be mechano-sensitive, but the underlying molecular mechanism in OSCC tumorigenesis remains unclear. Elevated TRPV4 expression was required for agonist-dependent Ca^{2+} entry and its expression was involved in CaMKII-mediated AKT activation to regulate OSCC cell proliferation. These results revealed that TRPV4/CaMKII/AKT axis promotes OSCC tumor cell growth, which might be activated by extracellular environments.

Adenosquamous carcinoma (ASC) is a rare malignant tumor with poor prognosis. ASC shows both squamous and glandular differentiation, histologically, but characterization remains to be clarified. An analysis of human case and the experiments using cell lines revealed that transcriptional factor-dependent DNA hypomethylation might associate with squamous cellular transdifferentiation into glandular cell.

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

IRS-4 HPV 関連頭頸部癌の病理

○山元 英崇

九大 病院 病理診断

高リスクヒトパピローマウイルス (HPV) は、中咽頭扁平上皮癌 (OPSCC) の約 60% に感染が認められ、化学放射線療法の効果が高く、予後良好の傾向を示す。頭頸部領域では OPSCC 以外にも、鼻副鼻腔、結膜、涙嚢 SCC の一部に HPV が関連することが報告されている。

高リスク HPV 感染腫瘍は、免疫染色で p16 陽性を示す。これは HPV がコードする E7 が宿主細胞の Rb に結合することによる転写活性ならびに細胞周期の亢進を反映している。p16 免疫染色は高リスク HPV 感染の surrogate marker として感度が高く、実臨床でも広く用いられているが、特異度は完璧ではないことに注意が必要である。特に OPSCC 以外の頭頸部癌では特異度が低く、p16 陽性のみで高リスク HPV 感染と判断することは避けるべきである。例えば、Rb 遺伝子異常により p16 が過剰発現するメカニズムも知られている。HPV 検出方法にも注意が必要で、PCR 法では、癌細胞自体に感染がなくても周囲環境に存在する HPV を反映して陽性 (偽陽性) となりうる。病理組織切片上で HPV 由来 RNA を検出する in-situ hybridization (ISH) 法は感度、特異度共に優れているが、手技やコスト等の課題が残されている。RNA-ISH 法による最近の検証では、口腔癌や喉頭癌における高リスク HPV 感染率は 2-3% 程度と考えられる。

最近我々は、HR-HPV 陽性 OPSCC における特徴的な Rb 蛋白発現パターンを見出し、p16 と Rb を組み合わせた免疫染色は cost-effective な HPV 感染の surrogate marker 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。

IRS-4 Pathology of HPV-related Head and Neck Cancer

○Yamamoto H

Dept Pathol, Kyushu Univ Hosp

Transcriptionally active high-risk human papilloma virus (HR-HPV) infection is an important etiological mechanism in the development of oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC), and it is an indicator of good chemo-radiotherapeutic response and favorable prognosis. Some population of SCCs in sinonasal cavity, lacrimal sac and conjunctiva are also associated with HR-HPV infection.

In HPV-infected cells, HPV E7 protein binds to Rb protein, and induces p16 protein overexpression. Although p16-IHC is highly sensitive for HR-HPV infection, it is not entirely specific, especially in non-OPSCC head and neck cancer. In addition, it should be noted that DNA-based PCR can cause false positive result of HPV infection. RNA *in situ* hybridization (ISH) on tissue specimen is an excellent method to detect transcriptionally active HR-HPV, but it is technically challenging to perform and expensive.

Recently, we have identified characteristic immunoexpression pattern of Rb, and the combined use of p16 and Rb immunohistochemistry could be a reliable, cost-effective method to predict HR-HPV infection in OPSCC cases.

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

DS-1 骨再生の細胞分子生物学

○自見 英治郎

九大 院歯 OBT研セ

再生医療とは、機能不全に陥った生体組織や臓器に対して、細胞を積極的に利用して機能を回復する医療である。患者自身の細胞をもとに組織や臓器を作り出すことができれば、拒絶反応の心配のない移植も可能になり、臓器移植や機械的な人工臓器に代償する治療法として実用化が進められている。再生医療は工学的技術を利用して生体組織を作り出すため、「ティッシュエンジニアリング」とも呼ばれ、「幹細胞」、「成長因子」と共に「足場」の3要素は必要な因子である。

骨組織には、骨形成を司る骨芽細胞と骨吸収を司る破骨細胞が存在し、骨量は骨吸収と骨形成のバランスによって維持されている。腫瘍切除、先天性奇形、外傷、骨折、手術、歯周炎などの大きな骨欠損の再建には、自家骨移植が第一選択だが、この方法には十分な移植可能な材料がない、移植部位の罹患、炎症、および移植された骨の吸収などの様々な問題がある。そこで、現在、骨再生、骨移植、人工骨材を目的として、Guided Bone Regeneration: GBR法、成長因子を用いた方法、細胞療法などが用いられている。

これらの方法の特徴を理解するために、本シンポジウムでは、細胞の分子メカニズムの基礎と骨再生における成長因子の役割について概説する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

DS-1 The cellular and molecular mechanism of bone regeneration

○Jimi K

OBT Res Ctr, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Regenerative medicine is the process of creating living, functional tissues to repair or replace tissue or organ function lost due to age, disease, damage, or congenital defects using the patient's own cells. Since regenerative medicine uses engineering technology to generate biological tissues, it is also called "Tissue Engineering", and the three elements of "scaffold" together with "stem cells" and "growth factors" are important factors.

Bones are dynamic tissues and bone mass is kept constant by the balance between bone formation and bone resorption. Although, the gold standard for reconstruction of large bone defects, such as tumor resection, congenital malformation, trauma, fractures, surgery, or periodontitis is the use of autogenous bone grafts, this method has significant limitations, such as a lack of sufficient transplantable materials, donor site morbidity, inflammation, and resorption of the implanted bone. Thus, currently, for the purpose of bone regeneration, bone transplantation and artificial bone materials, Guided Bone Regeneration: GBR method, methods using growth factors and cell-based therapy, etc. are used.

In this symposium, I will review the basis of the cellular and molecular mechanisms and the role of growth factors for bone regeneration in order to understand the characteristics of these methods.

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

DS-2 炭酸アパタイト人工骨による骨再生治療

○石川 邦夫

九大 院歯 生体材料

骨再建術の第一選択は自家骨移植である。自家骨採取に伴う健全部位への侵襲など重篤な問題が不可避であるにも関わらず自家骨移植が第一選択である理由は人工骨の機能不足が原因である。典型的な人工骨の一つである水酸アパタイト（ハイドロキシアパタイト）は骨伝導性を示すものの、骨形成能が低く、新しい骨に置換されることもない。

水酸アパタイトが人工骨として開発された1970年代は、焼結法で人工骨を調製していたため、骨の無機成分である6～9%の炭酸基を含む炭酸アパタイトは調製できなかった。演者らは、炭酸カルシウムなどの前駆体を用いた溶解析出反応によって、骨組成である炭酸アパタイト人工骨を水溶液中で調製する方法を見出した。また、炭酸アパタイトは破骨細胞に吸収されるため骨リモデリングに調和して新しい骨に置換されること、水酸アパタイトと比較すると圧倒的に高い骨形成能を示すことも明らかにした。

炭酸アパタイト人工骨は、多施設治験を行い、世界初の骨組成人工骨として承認された。また、インプラントなどの荷重負荷部位を含む全ての歯科・口腔外科領域での使用が承認された日本初の人工骨である。

骨組成に学んだ炭酸アパタイト人工骨は骨再生治療に有用な人工骨であるが、骨再生治療に必要な要件は組成だけでなく、構造なども重要な要件である。例えば、ハニカム構造の炭酸アパタイトハニカムを用いると垂直的骨造成も容易に行うことができる。

本講演では人工骨の組成及び構造が骨再生治療に及ぼす影響について報告する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

DS-2 Bone regeneration treatment using carbonate apatite artificial bone

○Ishikawa K

Sect Biomater, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Although significant morbidity is inherent to harvest autograft, it remains the gold standard for regeneration of bone. This is due to poor capability of artificial bone. For example, sintered hydroxyapatite (HAp) demonstrate poor osteogenesis, and will not be replaced to new bone. We have previously reported carbonate apatite (CO₃Ap), component of bone, can be fabricated through dissolution-precipitation reaction in a solution using a precursor block. The CO₃Ap block demonstrated much higher osteogenesis when compared to HAp and replaced to new bone based on bone remodeling process similar to autograft. Clinical use of CO₃Ap artificial bone was approved after multi-center clinical trials.

It should be noted that composition is just one of the important factors that govern ability of artificial bone. For example, structure of the artificial bone also governs its ability. Vertical bone regeneration can be done using CO₃Ap honeycomb which has interconnected porous structure.

Effects of composition and structure of artificial bone on bone regeneration treatment will be discussed in this talk.

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

DS-3 材料科学の視点による骨石灰化の再評価と骨の新しい作り方への応用

○松本 卓也

岡大 院医歯薬 生体材料

近年、骨再生技術は種々考案、検討されており、国内においても日本発の生物系製剤（例：リグロス）や骨補填材料（例：サイトランスグラニュール）などの販売が始まっている。これら薬剤、材料の応用の結果、現在、小規模欠損に対する歯槽骨組織再生はある程度達成されつつある。そこで今後、骨再生研究は、より早期の骨再生や、再生骨の骨質制御など、さらに高いレベルの組織再生が目的の1つになるものと予測される。このような高いレベルの骨再生を達成するためには、従来のアプローチでの骨再生では不十分であり、これまででない新規の骨再生アプローチを考案する必要がある。このための解決策として、我々は骨発生の材料学的再検討を進めている。骨発生過程そのものを物質（モノ）ならびに、その周囲環境（化学反応場）といった材料科学的観点で、さらには時間空間的にマルチスケールで観察し直し、そこで得られた知見を元に新たな骨再生技術を開発するという試みである。

我々はこの試みの過程で、大腿骨骨端部分における軟骨細胞の破裂や破裂細胞膜の断片化、石灰化小球の新たな形成過程、その過程における水の役割など新たな知見を種々獲得している（Integr Biol, ACS Biomater, 2018; ACS Appl Bio, 2019）。今回は、これら知見をもとに、迅速な骨再生に向けた取り組みを中心に報告させていただく。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

DS-3 Re-evaluation of bone mineralization by perspective of materials science, and its application for new bone synthesis method

○Matsumoto T

Dept Biomater, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

In recent years, various bone regeneration techniques have been developed. In Japan, biologics (e.g. Regroth) and bone replacement materials (e.g. Cytrans Granules) are sold. As a result of the application of these drugs and materials, small-scale bone defect is currently recovered to some extent. Therefore, in the future, it is expected that one of the objectives of bone regeneration research will be a higher level of tissue regeneration, such as earlier bone regeneration and control of bone quality of regenerated bone. As a solution to this, we re-evaluate bone development from a materials science perspective. In addition, re-evaluation is performed on a multi-scale in time and space. Furthermore, we develop a new bone synthesis method based on the obtained findings.

In the course of these researches, we obtained various new findings such as rupture of chondrocytes at the epiphyseal part of the femur, fragmentation of the ruptured cell membrane, new formation of calcospherites, and the role of water in the process. (Integr Biol, ACS Biomater, 2018; ACS Appl Bio, 2019). Today, I present our efforts for rapid bone regeneration based on our research results.

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

BS-1 顎骨研究における骨形態計測法の活用

○江尻 貞一

朝日大 共同研

顎骨は神経堤細胞由来の外胚性間葉から主に膜性骨化（下顎頭と筋突起の一部は軟骨内骨化）により形成され、沿軸中胚葉由来の間葉細胞から軟骨内骨化により形成される椎骨や大腿骨などの体肢骨とは、かなり異なる特徴を有している。特に歯槽部には歯が植立しており、咬合によるメカニカルストレスが歯根を介して常に顎骨内部に伝達されとともに、歯周病などに起因する炎症の影響も受けやすい。従って、顎骨の骨代謝動態を研究するにあたっては、ホルモンや薬剤による全身性の影響と咬合によるメカニカルストレスの局所における作用、さらに歯周病などの炎症性サイトカインの影響などを考慮する必要がある。

研究手法としては、骨代謝マーカーを用いた生化学的検索、光顕、電顕、組織化学などを用いた組織学的検索、DEXA, pQCT, μ CT などを用いた X 線画像解析や骨塩量測定などがある。このうち、骨代謝マーカーを用いた生化学的検索結果は、検査時点での全身性の骨代謝状況を示し、X 線学的に測定できる骨塩量や骨量のデータは長期間に渡る骨代謝動態の最終的な状態を示している。また光顕、電顕、組織化学などを用いた組織学的情報は、その両者を結ぶ骨組織や細胞の活性状況を示してくれる。特に、骨形態計測法は骨の組織レベルでの骨代謝回転について静的および動的情報を、定量的に客観性をもって示すことができ、複雑な特性を有する顎骨研究において必要欠くべからざる研究手法である。しかしながら、実験動物の長管骨や椎骨あるいはヒト腸骨生検試料における骨形態計測法とは異なり、顎骨研究における骨形態計測法は顎骨の部位特異性や動物種による顎骨形態の差異により、計測方法が標準化されているとは言い難い。

本講演では、これまで骨形態計測学的手法を用いて検索してきた各種実験動物の顎骨動態やヒト顎骨の生検試料を用いた研究成果を提示することで、顎骨の特異性や顎骨研究における骨形態計測法の有用性について述べたい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

BS-1 Application of bone morphometry to jawbone research

○Ejiri S

Joint Res Lab, Asahi Univ

The jawbone has quite different characteristics from the vertebrae, femur, and other body limb bones. Particularly in the alveolar region, the mechanical stress caused by occlusion is always transmitted to the jawbone through the root of the tooth and is also susceptible to inflammation caused by periodontal disease. Therefore, when studying the bone metabolism dynamics of the jawbone, it is necessary to consider the systemic effects of hormones and drugs, the local effects of mechanical stress due to occlusion, and the effects of inflammatory cytokines such as periodontal disease. Bone morphometry can quantitatively and objectively provide static and dynamic information on bone turnover at the tissue level, and is an indispensable research method in the study of the jawbone.

In this presentation, I would like to discuss the specificity of the jawbone and the usefulness of bone morphometry for jawbone research by presenting the results of the research using biopsy samples of human jawbone and the dynamics of jawbone from various experimental animals that have searched using bone morphometry.

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

BS-2 骨形態計測法の臨床的意義

○山本 智章^{1,2}, 島倉 剛俊^{1,2}, 高橋 榮明^{1,2}

¹新潟骨の科学研, ²新潟リハビリテーション病院

骨形態計測学の臨床的応用は1960年代に始まり, 非脱灰標本とテトラサイクリン標識の発見によって骨粗鬆症および骨代謝性疾患の研究に大きな貢献をしてきた。骨格の特徴として内部は均一な構造ではないこと, 部位による形態と代謝動態の違いが大きいこと, カルシウム調整機能のみならずメカニカル機能を有し力学的な環境によって変化することなど特殊な器官であることを理解した上でDXAや代謝マーカーを評価すべきである。現在, 様々な骨粗鬆症治療薬が臨床に登場し骨強度を向上させて骨折抑制効果をもたらしている。しかしながら顎骨壊死や非定型大腿骨骨折の問題は薬剤との関係が示唆されており, そのメカニズム解明と治療戦略に骨形態計測学的な情報は不可欠である。

2008年のFDAコンセンサスパネルでは骨粗鬆症治療薬の承認に腸骨生検による評価が提唱されている。これは薬剤によって骨代謝動態が異常な変化をもたらしていないか, 新たに形成された骨組織は健全な層板骨か, 長期的治療で安全性が示されているかなど組織的な確認を重視していることが明確である。骨形態計測は骨組織を直接観察することによって真の骨代謝状態を評価することが可能であり, 骨格は栄養状態や内科的疾患においても影響を受けていることが知られている。腸骨生検は侵襲的な検査方法ではあるが, 臨床において原因不明の脆弱性骨折や全身疾患に伴う骨格異常の患者では積極的に腸骨生検を考慮すべきである。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

BS-2 Clinical significance of bone histomorphometry

○Yamamoto N^{1,2}, Shimakura T^{1,2}, Takahashi H^{1,2}

¹Niigata Bone Sci Inst; ²Dept Orthop Surg, Niigata Rehabil Hosp

Bone histomorphometry of transilial bone biopsy with undecalcified specimens and tetracycline labeling technique is a valuable and well-established tool for studying osteoporosis and metabolic bone diseases. Skeletal tissue reveals heterogeneity and differences depending on skeletal site on microarchitecture and turnover.

FDA required iliac bone biopsy study for the approval of osteoporosis drugs in clinical use to make sure the effects of drugs and no abnormal findings. Even the bone biopsy is invasive method for patients, we should consider to carry out this in case of unusual fragility fracture or abnormal skeletal changes in systemic disease.

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

BS-3 骨形態計測法からシグナル伝達研究への発展

○青木 和広¹, 池淵 祐樹², Masud Khan¹, 菅森 泰隆³, 田村 幸彦⁴, 本間 雅²

¹医科歯科大 院医歯 口腔基礎工, ²東大 病院 薬剤部, ³埼玉医大 歯口外, ⁴医科歯科大 院医歯 硬組織薬理

骨ミネラル領域のシグナル伝達研究は、この数十年で大きな発展を遂げている。一方で、骨関連研究領域では、骨形態計測の解析を依然として古い技術のように認識している。このシンポジウムでは骨形態計測学が骨研究を進めていく上で無くてはならないツールであることをお示ししたい。

誰かが新たな分子を発見し、その分子の骨代謝における生理的役割を知りたいければ、骨形態計測解析はその役割解明に強力なツールとなる。また、骨に対する薬剤開発においても骨形態計測は確かなエビデンスを提供する。2重蛍光ラベル像は、ある一定期間に骨が形成されていたという動かぬ証拠であり、このラベリング像から導き出される MAR (骨石灰化速度) や BFR (骨形成速度) などの骨形成の動的指標は、骨芽細胞の機能と骨形成の変化をはっきりと示すことができる指標である。古い技術と思われ、骨形態計測は業者任せで、研究者自身がじっくりと骨組織を見ることが少なくなってきたことは憂えるべき事と感じている。

今後の骨研究の進歩のために、このシンポジウムが骨形態計測を見直す機会となれば幸いである。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

BS-3 Advances in signal-transduction research starting from bone histomorphometry

○Aoki K¹, Ikebuchi Y², Khan M¹, Sugamori Y³, Tamura Y⁴, Honma M²

¹Dept Basic Oral Health Eng, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci; ²Dept Pharmacy, Univ Tokyo Hosp; ³Dept Chem Grad Sch Science, Univ Tokyo; ⁴Dept Pharmacol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

Signal-transduction research in the bone and mineral field of work has made dramatic advances in the past several decades. Conversely, the performance of bone histomorphometric analyses is still recognized as an old technique in the bone field of research. However, at this symposium, I would like to propose the use of bone histomorphometry as a compelling tool for the advancement of bone research.

If somebody discovers a new molecule and would like to know the physiological role that the molecule plays in the bone metabolism, then bone histomorphometric analyses could be a powerful tool to clarify such a role. Furthermore, if someone would like to know the effects of a candidate drug on bone, then bone histomorphometry could provide strong evidence, especially regarding bone formation. Since observations of fluorescent double labeling on bone is unassailable evidence on bone formation during a certain period of time, the dynamic parameters on bone formation, such as the mineral apposition rate or the bone formation rate can clearly show the changes in bone formation.

Taken together, further advances in bone research cannot progress without performing bone histomorphometry.

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

BS-4 骨吸収抑制薬関連顎骨壊死の病理学と組織学

○黒嶋 伸一郎, 佐々木 宗輝, 中島 和慶, 澤瀬 隆

長大 院医歯薬 インプラント

薬剤の作用機序が異なるビスホスホネート (BP) 製剤とデノスマブにより惹起される骨吸収抑制薬関連顎骨壊死 (ARONJ: BP 製剤に起因する BRONJ とデノスマブに起因する DRONJ) は, 患者の口腔関連 QOL を阻害してその後の社会生活や経済活動にも大きな影響を与える場合もあることから, 病因解明・病態把握・治療法開発はいずれも急務である. しかしながら, 臨床状況に類似した ARONJ 動物モデルはあまり作成されておらず, 基礎研究が進展していないのが現状である. 一方, ARONJ は主として抗がん剤やステロイド製剤に骨吸収抑制薬を併用投与されている患者で発症が多いことが疫学的に証明されている.

そこで我々は, 抗がん剤またはステロイド製剤と, BP 製剤または抗 RANKL 中和抗体の併用投与に抜歯を組み合わせて, 高頻度で BRONJ と DRONJ 様病変を惹起できるマウスモデルを開発した. さらにこれらの ARONJ モデルを実験ツールとして利用し, 複数の ARONJ 治癒/寛解モデルや, インプラント治療と関連した ARONJ モデルの開発にも成功した. そして, 開発された種々の高頻度発現型 ARONJ マウスモデルや治癒/寛解マウスモデルを用いて組織病理学的ならびに免疫病理学的に詳細な解析を行った結果, BRONJ と DRONJ は肉眼のおよび組織病理学的には類似しているが免疫病理学的には異なっていること, ならびに, 各種治療法にはそれぞれ特徴があり, 治癒促進効果の程度やその質が異なることを突き止めた.

そこで本講演では, 組織形態学的解析も含めて明らかにしてきた BRONJ / DRONJ における病因・病態解明研究と治療法開発研究をご紹介します.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

BS-4 Pathology and histology in antiresorptive agent-related osteonecrosis of the jaw

○Kuroshima S, Sasaki M, Nakajima K, Sawase T

Dept Appl Prosthodont, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Bisphosphonates and denosumab, which have different modes of action, rarely but severely cause bisphosphonate- and denosumab-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ and DRONJ, respectively). Generally, antiresorptive agent-related osteonecrosis of the jaw (ARONJ) has been recognized because both bisphosphonates and denosumab are categorized as antiresorptive agents. ARONJ can negatively affect the daily life of patients by inhibiting oral health-related quality of life. Thus, exploration of the pathogenesis and pathology of and development of treatment strategies for ARONJ are imperative. It has been demonstrated epidemiologically that ARONJ occurs mainly in patients receiving anti-cancer drugs or steroids/antiresorptive combination therapy.

Therefore, to mimic clinical situations, high-prevalence BRONJ/DRONJ murine models were developed by administering chemotherapy or steroids/bisphosphonates or anti-RANKL neutralizing antibody combination therapy with tooth extraction in our recent studies. Healing and/or amelioration BRONJ/DRONJ murine models were also developed. We demonstrated that immunopathology is clearly different between BRONJ- and DRONJ-like lesions, although gross and histopathological findings are similar. We also showed that healing/amelioration effects on BRONJ- and DRONJ-like lesions are distinct according to the types of developed treatment strategies applied.

In this lecture, we provide the information on the pathogenesis and pathology of and treatment strategy for BRONJ/DRONJ.

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

BS-5 骨質指標としての骨基質（コラーゲン／アパタイト）配向性による石灰化組織の評価

○中野 貴由

阪大 院工 生体材料

顎骨を含む生体内の石灰化組織を評価する手法は様々あるが、我々のグループでは骨基質の配向性を骨質指標として提唱している。骨基質の主たる成分であるコラーゲン線維やアパタイト結晶 c 軸の優先配向方向や配列度合いは、解剖学的部位に強く依存し、最適な骨機能を発揮する。

骨基質配向性は、骨疾患、骨再生、運動・咀嚼状態、栄養状態、遺伝子組み換え、投薬などにより変化し、時には骨密度や骨量よりもその変化が顕著である。さらに、近年、コラーゲン線維の走行方向に対して、アパタイト結晶の c 軸がほぼ平行に配置する原因が、非コラーゲン性タンパク質であるオステオカルシン (OCN) によって制御されることが解明された。その結果、オステオカルシン量の変化がコラーゲン線維／アパタイト結晶の相対的な方位関係をも制御することが明らかになっている。こうした骨基質の配向性の変化は、力学機能をはじめとする骨機能とも密接に関係するため極めて重要である。

骨基質配向性の解析は、侵襲的な方法として、アパタイト配向性は微量領域 X 線回折法などにより、コラーゲン線維の配向性は複屈折法をはじめとする手法により評価でき、近年では超音波の表面波を用いることで非侵入での診断も可能となっている。加えて、オステオサイトの配列や形状のアスペクト比などの骨形態計測手法においても、骨基質の定性的な評価が可能になっている。

本講演では、骨基質配向性を用いた石灰化組織の評価法とその重要性について解説する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

BS-5 Evaluation of calcified tissue analyzed by orientation degree of bone matrix (collagen / apatite) as an index of bone quality

○Nakano T

Area Biomater, Osaka Univ Grad Sch Engn

Although there are various methods for evaluating calcified tissues including the jawbone, our group proposes the orientation degree of the bone matrix as a bone quality index. The preferential orientation direction and degree of arrangement of the collagen fibers and the apatite crystal c -axis, which are the main components of the bone matrix, strongly depend on the anatomical site and exert optimal bone function.

Bone matrix orientation changes due to bone disease, bone regeneration, exercise/mastication condition, nutritional state, gene recombination, medication, etc., and sometimes the change is more remarkable than the bone mineral density and bone mass. Furthermore, in recent years, it has been clarified that the cause of the c -axis of apatite crystals being arranged almost parallel to the running direction of collagen fibers is controlled by osteocalcin (OCN).

As a result, it has been revealed that change in the amount of OCN also changes the relative orientation relationship between collagen fibers/apatite crystals. Such a change in the orientation of the bone matrix is extremely important because it is closely related to bone functions including mechanical functions.

In this presentation, I will explain the methodology analyzed by the calcified tissue using bone matrix orientation and its importance.

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

BS-6 骨形態計測法による骨粗鬆症薬の評価

○田中 伸哉

埼玉医大 整外

骨粗鬆症は骨新陳代謝により進行する。骨新陳代謝とは、破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成からなるが、ホルモン、機械的刺激、年齢、薬物の影響により、吸収と形成のバランスおよびその速さが変化する。閉経後骨粗鬆症では、骨形成能・石灰可能が低下するが、破骨細胞は増加し、骨表面では骨吸収面の増加と骨形成面の増加が同時におこる。その結果、骨新陳代謝速度は亢進し急激な骨量減少が生じる。さらに新陳代謝の亢進は、二次石灰化にかかる時間を短縮させ、骨密度の低下に拍車がかかる。

骨吸収抑制薬は、破骨細胞性骨吸収を抑制するので骨表面での骨新陳代謝部位が少なくなる。骨形成中のオステオンやパケットではしばらくの間、骨単位の完成まで骨形成がおこなわれるが、その範囲は徐々に限定され、骨量の増加も頭打ちになる。一方、二次石灰化時間は延長し、石灰化度の上昇にともない、骨密度が上昇する。

骨形成促進薬であるテリパラチドや副甲状腺ホルモン（PTH）は、骨芽細胞の分化を誘導するとともに活動性を亢進させる。同時に破骨細胞性骨吸収を誘導させると、骨形成範囲が広がり、骨量増加速度が速くなる。つまり、この骨形成優位の骨新陳代謝をはやく回転させると、骨量増加速度が速くなる。テリパラチド週1回製剤より、テリパラチド週2回製剤や連日製剤において効果発現が早い理由である。一方、二次石灰化時間は短縮するため、骨石灰化度は上昇せず骨量増加が骨密度に反映する。

骨密度と骨量はしばしば混同されるが、骨密度上昇が必ず骨量上昇を意味するのではない。骨折抑制効果とある程度関連するので臨床的には問題にはならないが、基礎研究では正確に事象を捉え、仮説の証明と新たな研究につなげなければならない。骨形態計測法を理解することが、全ての骨研究者に求められる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

BS-6 The importance of understanding the bone dynamics in basic research - Thinking of the effects of anti-osteoporosis drugs on bone metabolism -

○Tanaka S

Dept Othopaed Surg, Saitama Med Univ

Osteoporosis progresses with each bone remodeling which is constituent of osteoclasts bone absorption and osteoblasts bone formation. In post-menopausal osteoporosis women, decrease of the osteoblast function and increase in osteoclast number make bone remodeling faster and bone volume rapidly decreases.

Inhibition of osteoclastic bone absorption due to anti-bone absorption drugs decreases the sites of bone remodeling, and finally suppresses bone formation. Thus, increase in bone volume will peak soon. In turns, the period of the secondary mineralization becomes longer, and bone mineral density (BMD) become higher.

Drugs which have the effect of bone formation, as teriparatide and parathyroid hormone, also increase osteoclastic bone resorption to expand the sites of bone formation and, as a result, bone volume increases with each bone remodeling. Because of the shorter period of the secondary mineralization, lesser degree of mineralization, increase in BMD means the newly acquired bone.

Although increase in BMD can't strictly mean added bone volume, bone volume and BMD are often confused. But, in the basic science, detailed observation is needed to prove hypothesizes and to look out for new challenges. Thus, it can be expected that all bone scientists should be familiar with bone histomorphometry.

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

CS-1 運動機能を司る小脳の発達：咀嚼嚥下の機能発達の理解を目指して

○上阪 直史

医科歯科大 院医歯 認知神経生物

小脳は運動機能や運動学習を制御する脳領域であり、嚥下咀嚼時に活性化する脳領域の1つである。小脳のプルキンエ細胞は小脳から情報を出力する唯一の細胞である。登上線維は延髄の下オリブ核に起始する軸索であり、プルキンエ細胞にシナプス（神経細胞同士の結合）をつくり、運動や感覚の情報をプルキンエ細胞に伝える。この登上線維—プルキンエ細胞のシナプスは発達期に劇的に変化する。例えばマウスにおいて、生後7日目までに個々のプルキンエ細胞は平均約7本の登上線維からシナプス入力を受けるようになる。しかし、生後20日目ごろまでに、1本の登上線維以外の登上線維は徐々に取り除かれ、最終的にはほとんどのプルキンエ細胞は1本の登上線維からのみシナプス入力を受けるようになる。

私はマウスを用い、この登上線維—プルキンエ細胞シナプスの発達を制御するメカニズムを明らかにしてきた。これまでの研究結果より、マウスの生後20日目までに様々な細胞や遺伝子が登上線維—プルキンエ細胞シナプスにダイナミックに関わることでこのシナプスの発達が正確に制御されていることがわかってきた。また登上線維—プルキンエ細胞シナプスの発達変化に伴い、生後20日目までに小脳の活動が劇的に変化することも見いだされた。

本シンポジウムではこれまでの結果を紹介し、咀嚼嚥下の情報処理や運動制御において小脳が果たす役割を理解するためにどのようなアプローチが有効であるかを議論したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

CS-1 Synapse elimination in the developing cerebellum; Its possible relationship to mastication and swallowing.

○Uesaka N

Dept Cognitive Neurobiol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

The cerebellum is one of brain regions that controls motor functions and motor learning including swallowing and mastication. Purkinje cells in the cerebellum are the only type of cell that output information from the cerebellum. Climbing fibers are axons that originate in the inferior olive nucleus of the medulla oblongata, and form synapses (connections between neurons) with Purkinje cells, and transmit motor and sensory information to Purkinje cells. Climbing fibers-Purkinje cell synapses change dramatically during development. For example, in mice, individual Purkinje cells receive synaptic inputs from an average of approximately 7 climbing fibers by postnatal day 7. However, by about postnatal day 20, climbing fibers other than one climbing fiber were gradually removed, and eventually most Purkinje cells received synaptic inputs from only single climbing fiber.

I have clarified the mechanisms that controls the development of this climbing fiber-Purkinje cell synapse using mice. I have revealed that dynamics of various types of cells and genes precisely control the development of the climbing fiber-Purkinje cell synapse. I have also found that the activity of the cerebellum changed dramatically by about postnatal day 20 with the developmental change of climbing fiber-Purkinje cell synapses.

In this symposium, I would like to introduce the results so far and discuss what kind of approach is effective for understanding roles of the cerebellum in information processing and motor control of mastication and swallowing.

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

CS-2 咀嚼運動制御に関わる神経基盤：脳幹に存在する顎運動制御回路について

○中村 史朗

昭大 歯 口腔生理

超高齢社会を迎えたわが国では、健全な摂食機能を維持することが健康寿命の延伸に重要であるという認識が高まっている。そのためには「咀嚼運動」そのものについての理解が不可欠であるが、未だ制御メカニズムの十分な解明には至っていない。咀嚼時に生じる顎運動は、開口と閉口を主体としたリズムミカルな運動を特徴とし、特に意識しない場合でも食物の性状に応じて適切に調節される。咀嚼の基本的な顎運動パターンは脳幹で形成され、プレモーターニューロンを介して三叉神経運動核に存在する運動ニューロンへと送られ、最終的な運動指令が顎筋へと伝えられる。

我々はこれまで、顎運動に関連する局所神経回路の生理学的特性に焦点を当てて研究を行ってきた。三叉神経運動核の周囲には三叉神経運動核に軸索を伸ばしその活動を調節するプレモーターニューロンが数多く存在する。近年我々は、自律神経中枢の発生に関与する転写因子 Phox2b を発現するニューロンがこの領域に豊富に存在することを明らかにしてきた。この Phox2b 陽性ニューロンの大部分は興奮性ニューロンで低頻度の発火パターンを示した。さらにその多くが三叉神経運動核に軸索を伸張していたことから、顎運動制御に重要な役割を果たしていると考えられた。また、摂食調節物質として知られるオレキシンを Phox2b 陽性ニューロンに投与すると、脱分極性の応答が誘発され活動電位発射パターンが変調した。このように、三叉神経運動ニューロンは Phox2b 陽性ニューロンを介して神経調節を受けている可能性が考えられる。さらに、Phox2b 陽性ニューロンは自律神経機能と関連が深いことに着目し、近傍に存在する顎下腺・耳下腺支配の上唾液核ニューロンとの相互作用を検索している。

さらに本シンポジウムでは、自由行動下の動物を用いた顎運動機能の最新の知見についても紹介したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

CS-2 Neural basis of mastication: jaw movement regulation by local brainstem circuits

○Nakamura S

Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent

The basic motor patterns for mastication originate in the brainstem and then transmitted to trigeminal motoneurons that innervate the masticatory muscles via premotor neurons.

We have focused on the physiological properties of local neural circuits related to jaw movements. Premotor neurons are distributed in the lateral reticular formation surrounding the trigeminal motor nucleus in the brainstem. A group of neurons that express Phox2b, a transcript factor related to development of the autonomic nervous system, was found in the pontine and medullary reticular formation in our recent study. Phox2b-positive neurons in these regions are glutamatergic, show low-frequency firing, and send their axons to the trigeminal motor nucleus, suggesting an important role in control of jaw movements. In addition, application of hypothalamic neuropeptide orexin resulted in depolarization of Phox2b-positive neurons and modulated their firing patterns. Those results suggested that orexin modulates the properties of Phox2b-positive neurons, which may have effects on trigeminal motoneuron activities.

In this symposium, we will also discuss other roles of Phox2b-positive neurons related to salivary secretion as well as recently obtained data from freely moving animal experiments regarding oro-motor functions.

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

CS-3 咀嚼による脳機能制御機構を運動器科学の視点から再考する

○小野 岳人^{1,2}

¹医科歯科大 院医歯 分子情報伝達, ²AMED-CRESTプログラム

咀嚼は栄養を摂取するプロセスの初期相を構成する重要な生体機能である。加えて、咀嚼運動は記憶や情動、集中などの脳機能と深く関わっている。高齢者において咀嚼機能の低下と認知機能の低下が認められることから、両者の相関が古くから指摘されている。また、スポーツや運動、勉強の際にガムなどを咀嚼することがパフォーマンスの向上に役立つといわれている。咀嚼時には歯根膜や口腔粘膜を介した様々な感覚刺激が発生し、それが上位脳に伝達され脳機能に影響を及ぼすと信じられているが、そのメカニズムには不明な点が多い。また、咀嚼に伴う脳内での変化として、海馬における神経活動性の増加、脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor; BDNF) 産生の増加、細胞増殖の亢進、シナプスの増加などが現象レベルで断片的に報告されているが、それらの現象が引き起こされる分子メカニズムや脳機能への直接的な関与の有無は不明である。

咀嚼に際しては、咀嚼筋は体重と同等の力を発揮し、顎骨はその力を受容する。筋や骨の細胞は運動に際して interleukin (IL)-6, insulin-like growth factor (IGF)-1, BDNF など様々な生理活性分子を産生することが知られており、その中には血液脳関門を通過するものもある。発表者は、咀嚼に際して咀嚼筋や顎骨から産生される生理活性分子が血液脳関門を通過して脳機能に影響を及ぼす可能性に着想した。

本セッションでは、咀嚼運動による脳機能制御についてのこれまでの知見を整理し、運動器科学の観点からその制御機構について考察・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。

CS-3 Revisit of the regulatory mechanisms of brain functions by mastication from the viewpoint of locomoscience

○Ono T^{1,2}

¹Dept Cell Signal, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci; ²AMED-CREST program

Mastication is an essential function that constitutes the process of nutrition. In addition, this function is known to be involved in brain functions such as memory, mood and concentration. Masticatory stimulation is sensed by afferent neurons in the periodontal ligament and beneath the oral mucosa, which is widely believed to affect the activity of the upper neurons, regulating brain functions. However, precise mechanisms underlying the regulation are not fully understood.

During mastication, the masticatory muscles generate as large force as body weight, and the jawbone endures the force. Upon the generation and sensation of the force, it is known that the muscle and the bone produce a variety of molecules which can regulate brain functions.

In this session, I would like to summarize the findings on the regulation of brain functions by mastication; and discuss its mechanism from the viewpoint of locomoscience.

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

AD-1 脂肪細胞の「数と質」を改善するオステオカルシン○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 哲一郎¹, 平田 雅人⁴¹福歯大 機能構造, ²九大 院歯 口腔細胞工, ³九大 院歯 OBT研セ, ⁴福歯大 口腔医セ

オステオカルシン (OC) は骨基質タンパクの1つであり, 骨形成時などに重要な働きをすることが知られているが, その中でも非カルボキシル化 OC (GluOC) は糖・エネルギー代謝を活性化させることが知られるようになった. この GluOC を脂肪細胞に作用させると, 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と, その発現亢進までのシグナル伝達経路を, 我々は今までの研究で明らかにした. この研究過程において, 高濃度 (>20 ng/ml) の GluOC では脂肪細胞に細胞死が誘導されている可能性に気付いた.

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ーシス) 誘導メカニズムについて, そのシグナル伝達経路の解明を中心に解析した. まず, 高濃度 GluOC はその受容体として知られる GPRC6A に結合し, cAMP の濃度上昇に続いて, PKA および CREB を順次活性化させるのと同時に PKA を介して CREB の転写共役因子の1つである p300 も活性化させ, 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, 全体の約3割に相当する脂肪細胞が細胞死し, 残った大多数の脂肪細胞はアディポネクチンの発現亢進により, 代謝に有利な性質を獲得する. よって, 我々が今回明らかにした GluOC の濃度によるその効果の違いや GluOC シグナル伝達経路の一部は今後, 肥満や糖尿病といった生活習慣病に対する新たな薬理的戦略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.**AD-1 Amelioration of cell number and metabolic features of adipocytes by osteocalcin**○Otani T¹, Matsuda M², Mizokami A³, Kitagawa N¹, Jimi E^{2,3}, Inai T¹, Hirata M⁴¹Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll; ²Sect Mol Cell Biochem; ³OBT Res Ctr, Kyushu Univ Grad Sch Dent;⁴Oral Med Res Ctr, Fukuoka Dent Coll

Osteocalcin, which is one of non-collagenous bone matrix proteins and plays a role in bone formation, has been known to regulate the metabolism of glucose and energy in its uncarboxylated form, designated as GluOC.

We examined the effects of GluOC on adipocytes, and then elucidated the signaling pathway by which GluOC increased the expression of adiponectin, an adipokine regulating glucose and lipid metabolism, 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 induces cell death in 3T3-L1 adipocytes, by the mechanism that high-dose GluOC induced the programmed necrosis (necroptosis) in adipocytes via GPRC6A-cAMP-PKA-CREB-FoxO1 axis together with the activation of p300, a CREB transcriptional co-activator followed by the expression of FasL. High-dose GluOC decreased the cell number of adipocytes by approximately 30% at maximum, probably because direct cell-cell contacts were required for necroptosis via FasL/Fas interaction. Then, we consider it highly significant that we elucidated the difference of GluOC effects by its concentration and a part of the mechanism of GluOC signaling because GluOC might have the potential for a new pharmacological strategy in the treatment of obesity and diabetes in the future.

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

AD-2 多角的アプローチによる口腔癌の発生・進展の分子機構の解明

○常松 貴明, 工藤 保誠, 石丸 直澄

徳大 院医歯薬 口腔分子病態

口腔癌は、世界で頻度の高い癌の一つであり、超高齢化社会を迎える我が国では今後益々、発生率の増加が予想される。さらに、口腔という発生部位の特性から摂食・嚥下の機能的損失、併せて審美的損失をもたらす、担癌患者のQOL低下が著しい。しかしながら、口腔癌は他の癌に比較して、その発生・進展に関する知見は少なく、分子標的薬の開発が遅れているのが現状である。口腔癌の発生・進展における分子機構を明らかにするため、癌では細胞周期や細胞分化の異常が必須であることに着目し、細胞周期や細胞分化の分子制御機構を明らかにしてきた。加えて、担癌患者の予後に直結する癌の浸潤機構にも着目し、口腔癌の浸潤を促進する分子を同定するなど、これまで様々な側面から多角的に研究を展開してきた。

本シンポジウムでは、これまでの我々の知見と併せて、特にこれまで口腔癌において浸潤、血管やリンパ管新生の促進を介して転移に関わる分子として報告してきた Periostin に関しての最新の知見を発表したい。Periostin は主に腫瘍間質中の線維芽細胞より分泌される細胞外マトリックスであるが、我々は癌細胞自体にも発現することを報告してきた。しかしながら、腫瘍間質が豊富に産生する Periostin を癌細胞が発現する意義は不明のままであった。詳細な検討を行ったところ、癌細胞が特異的に産生する Periostin の存在を見出し、腫瘍間質より産生される Periostin とは異なる機能を有することを明らかにしたことから、癌細胞特異的 Periostin は新たな悪性度診断マーカーや治療標的分子となりう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。

AD-2 Identification of the molecular mechanism of carcinogenesis and progression in oral cancer through multidirectional approach

○Tsunematsu T, Kudo Y, Ishimaru N

Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

Oral cancer is one of the most common types of human cancer and it is considered to increase during super-aging society in Japan. Furthermore, oral cancer cause dysfunction of eating, swallowing and also poor esthetic outcome. However, there is no molecular targeted therapy for oral cancer. So, our group try to clarify the molecular mechanism of oral carcinogenesis and cancer progression for development of novel molecular targeted therapy through multidirectional approach such as focusing on the aberration of cell cycle control or cell differentiation and also cancer cell invasion.

In this symposium, we would like to introduce novel finding about Periostin (POSTN), which we previously identified as poor prognostic factor in oral cancer via promoting invasion, angiogenesis and lymphangiogenesis. POSTN is currently well-known invasion related factor in various cancers and produced by cancer associated fibroblasts (CAFs), whereas we reported that cancer cells itself also expressed but its significance compared with CAFs producing one is still unclear. Surprisingly, we identified cancer cell specific type of POSTN and found novel function. Taken together, our findings suggest cancer cell specific POSTN has the potential for novel prognostic marker and molecular therapeutic target in oral cancer.

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

AD-3 DEL-1 分子誘導による抗炎症および骨形成メカニズムの解明

○前川 知樹

新潟大 院医歯 高度口腔セ

私は大学院生時に歯周病と心血管系疾患との関連性について研究を行い、2年次に先端歯学国際研究教育ネットワークにて発表する機会を得た。また同世代の歯学研究者との交流も始まった。その頃から研究対象器官としての口腔に大きく興味を持ち始めてきたと思う。本シンポジウムでは、私のこれまでの研究の流れと、現在進行中の、歯周炎を対象としたマクロライドを用いた抗炎症因子 DEL-1 誘導法による免疫調節および骨再生メカニズムの解明への取り組みについて説明したい。

マクロライドは、抗菌作用の他に、抗炎症作用をもつことが示唆されており、歯周炎での治療に応用されている。しかしながらその作用は不明な点が多い。そこで、2つの粘膜疾患（歯周炎と肺炎）を対象とした研究から、マクロライド系抗菌薬のエリスロマイシン（ERM）が DEL-1 を誘導することで炎症抑制の効果を発揮しているのではないかと仮説を立てた。

ERM を肺炎および歯周炎モデルマウスに投与すると、DEL-1 の発現上昇とともに、炎症組織への過度な好中球の遊走抑制および歯周組織における間葉系幹細胞の増殖や骨芽細胞への分化促進が認められた。さらに *in vitro* による実験により、DEL-1 は、FAK-ERK1/2-RUNX2 経路を介した骨形成促進能と MAC-1 を介した破骨細胞抑制機構をもつことを見出した。また、ERM は血管内皮細胞の Growth hormone secretagogue receptor に作用することで、DEL-1 の発現を上昇させていることが示唆された。

加齢に伴って減少する DEL-1 の ERM による誘導は、加齢性炎症疾患（肺炎・歯周炎・リウマチ性関節炎等）への新しい治療アプローチとなる可能性が高い。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

AD-3 Elucidation of anti-inflammatory and bone regeneration mechanism induced by homeostatic protein DEL-1

○Maekawa T

Res Ctr Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Macrolide antibiotics exert anti-inflammatory effects; however, little is known regarding their immunomodulatory mechanisms. In this study, using two distinct mouse models of mucosal inflammatory disease (LPS-induced acute lung injury and ligature-induced periodontitis), we demonstrated that the anti-inflammatory action of erythromycin (ERM) is mediated through upregulation of the secreted homeostatic protein DEL-1.

Consistent with the anti-neutrophil recruitment action of endothelial cell-derived DEL-1, ERM inhibited neutrophil infiltration in the lungs and the periodontium in a DEL-1-dependent manner. Whereas ERM (but not other antibiotics such as josamycin and penicillin) protected against lethal pulmonary inflammation and inflammatory periodontal bone loss, these protective effects of ERM were abolished in DEL-1-deficient mice. By interacting with the growth hormone secretagogue receptor (GHSR) and activating JAK2 in human lung microvascular endothelial cells, ERM induced C/EBP β -dependent DEL-1 transcription, which was mediated by MAPK p38. Moreover, ERM reversed IL-17-induced inhibition of DEL-1 transcription, in a manner that was not only dependent on JAK2 but also on PI3K/AKT signaling.

As DEL-1 levels are severely reduced in inflammatory conditions and with aging, the ability of ERM to upregulate DEL-1 may be a novel approach for the treatment of inflammatory and aging-related diseases.

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

AD-4 「先端歯学国際教育研究ネットワーク」の過去・現在・未来

○山口 朗

東歯大 口科研セ

「先端歯学国際教育研究ネットワーク」は、我が国の歯科大学・歯学部及び関連領域の第一線教育研究者の集約的連携を図り、これを中心に据えた国際的ネットワークを構築し機能させて、我が国の基礎及び臨床歯学の教育研究を世界の最先端に伍する水準に維持することを目的として、2005年に設立された。その後、本ネットワークは現在までに時代とともに変遷してきたが、その間、all Japan体制で世界をリードする歯学・口腔科学研究を構築しようという心意気は常に維持されてきた。

発表者は、本ネットワークに発足当時から関わってきたので、本講演ではその過去と現在を紹介し、今後の展望（希望）を述べたい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

AD-4 Past, Present and Future of the Network for International Education and Research in Advanced Dental Sciences

○Yamaguchi A

Oral Health Sci Ctr, Tokyo Dent Coll

The Network for International Education and Research in Advanced Dental Sciences was established in 2005 to develop the international network that lead Japanese dental science to be on the forefront of the world by gathering front runners of Japanese oral scientists and related leading scientists. Although system of this network has been changing with times after the establishment, we have been keeping a mind that our research network contributes to establish world-leading oral sciences by coordination in terms of all-Japan.

Since I have been involved in this network from the beginning, I will overview the past and the present of this network and discuss future prospects.

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

ES 効率的な研究成果のアピール方法について○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。同時に自分の研究成果を効率的にアピールすることも重要である。現在、科研費の審査の際に、審査委員が研究代表者・分担者の「researchmap」ページや「KAKEN」の掲載情報を必要に応じて参照できる様になった。また、多くの国際的ジャーナルで、投稿時の「ORCID」電子認証が推奨されており、公表される論文は自動的に個人ページに登録される。さらに、論文査読を引き受ける際に「publons に査読実績を自動的に書き込むか」尋ねられ、査読実績もデータベース化され、相互のデータベース連携も可能になってきた。このようなデータベースを活用することが求められる。

一方、「プレゼンテーション」は研究の論理的な検証の第一歩であり、科学者として生きてゆくために不可欠となる技術である。「あなたの研究」と「あなた自身」を売り込むのがプレゼンテーションである。科学プレゼンテーションでは、講演者はプレゼンテーション開始後すみやかに、自らの研究が取り扱う「Key Question」を明確に提示して、その Question を聴衆と共有しなければならない。ある視点から「Key Question」を眺めて、その意義や価値を説明する情報を「Perspective Frame」と呼ぶが、焦点の絞れた Key Question と、その Question の価値を十分に楽しめるだけの「Perspective Frame」を提供することが肝要である（国立遺伝学研究所「遺伝研メソッドで学ぶ科学英語プレゼンテーション」）。

本講演では、効率的な研究成果のアピール方法を伝えるとともに、学会でのプレゼンを聴き手にとってわかりやすく魅力的なものにするポイントについても言及したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

ES How to appeal own research results effectively and give an impressive presentation○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 are 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. In addition, the usage of “researchmap” that is an information sharing platform for the researchers, “ORCID” (Open Researcher and Contributor ID), and “publons” is recommended for researchers to tracks own publications, citation metrics, peer reviews, and journal editing work in a single, easy-to-maintain profile, since these databases are referred for the evaluation of individual researcher.

On the other hand, giving a presentation is the first step for the logical verification of raised concerns and the researchers should sell to their research and themselves for an audience. The speakers have to provide “Key Question” through “Perspective Frame” and share it with an audience.

In this lecture, I focus on the tips regarding how to appeal own research results effectively and how to give an impressive presentation.

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

US1-1 膜型 RANKL を標的にした骨形成促進薬の開発

○青木 和広¹, 清水 優里^{1,2}, Lu Wei³, 廣橋 優奈¹, 曾根 絵梨⁴, 池淵 祐樹², Masud Khan¹, Fatma Rashed¹, 田村 幸彦⁵, 菅森 泰隆⁶, 寺坂 尚紘³, 宇田川 信之⁷, 依田 哲也⁴, 本間 雅², 菅 裕明³

¹医科歯科大 院医歯 口腔基礎工, ²東大 病院 薬剤部, ³東大 院理学 生物有機化学, ⁴医科歯科大 院医歯 歯 顎顔面外, ⁵医科歯科大 院医歯 硬組織薬理, ⁶埼玉医大 歯口外, ⁷松歯大 歯 口腔生化

我々は、経口投与の薬剤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、オリエンタル酵母工業や金沢大学ナノ生命科学研究所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 分子を介した骨芽細胞初期分化促進作用, 3. RANKL に結合するが骨芽細胞分化を促進しない osteoprotegerin (OPG) と RANKL 結合ペプチドとの違いという3つの観点から 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。また、構造式を明らかにはできないが、従来の RANKL 結合ペプチドより高い RANKL 親和性を持つ新規ペプチドに関するご紹介したい。

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】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US1-1 The development of bone anabolic reagent targeting on membrane-bound RANKL molecules

○Aoki K¹, Shimizu Y^{1,2}, Lu W³, Hirohashi Y¹, Sone E⁴, Ikebuchi Y², Khan M¹, Fatma Rashed¹, Tamura Y⁵, Sugamori Y⁶, Terasaka N³, Udagawa N⁷, Yoda T⁴, Honma M², Suga H³

¹Dept Basic Oral Health Eng, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch; ²Dept Pharmacy, Univ Tokyo Hosp; ³Dept Chem Grad Sch Science Univ Tokyo; ⁴Dept Oral Maxillofac Surg; ⁵Dept Pharmacol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch; ⁶Dept Oral Surg, Saitama Med Univ Hosp; ⁷Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ

We investigated the RANKL-binding peptide as a stimulator of local bone formation. These peptides have already been shown to inhibit bone resorption. The stimulatory mechanism of bone formation associated with these peptides has recently been clarified owing to successful collaboration with many research institutes.

We would like to present and discuss three main issues at this symposium; 1) the history of the RANKL-binding peptide and its inhibitory effects on bone resorption, 2) the role of membrane-bound RANKL molecules on osteoblast differentiation, and 3) clarify the differences between osteoprotegerin and the peptide on bone formation which both bind to RANKL. The recent development of peptides with a higher RANKL-binding affinity will also be discussed, although we will not be able to show the structures of these novel peptides at this symposium.

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 interest associated with this manuscript.

US1-2 RANKL-OPG バランスによる腸管恒常性維持

○木村 俊介, 中村 有孝, 長谷 耕二

慶應大薬生化学

M細胞は腸管腔内の抗原を取り込み上皮下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細胞であるM細胞の数は厳密に制御され、リンパ濾胞上皮に限局し、さらには、そのうちの10%程度に抑えられている。

M細胞の数の制御機構は不明であった。我々はM細胞がOPGを分泌することを見だし、OPG欠損マウスではM細胞数が増加することを明らかにした。M細胞分化は上皮下のストローマ細胞上のRANKLによって促進されることから、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ていると考えられる。

OPG欠損マウスでは腸管IgA産生能が上昇し、DSS誘導性大腸炎の症状が緩和された。一方でサルモネラ感染に対しては脆弱性を呈した。以上のことから、腸管上皮におけるOPGはM細胞の数を制御することで、管腔内物質の上皮透過を調節し、腸管恒常性の維持に働くと考えられる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US1-2 Osteoprotegerin-dependent M cell self-regulation balances gut infection and immunity

○Kimura S, Nakamura Y, Hase K

Div Biochem, Fac Pharma, Keio Univ

Microfold cells (M cells) are responsible for antigen uptake to initiate immune responses in the gut-associated lymphoid tissue (GALT). Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) is essential for M cell differentiation. Follicle-associated epithelium (FAE) covers the GALT and is continuously exposed to RANKL from stromal cells underneath the FAE, yet only a subset of FAE cells undergoes differentiation into M cells.

Here, we show that M cells express osteoprotegerin (OPG), a soluble inhibitor of RANKL, which suppresses the differentiation of adjacent FAE cells into M cells. Notably, OPG deficiency increases M cell number in the GALT and enhances commensal bacterium-specific immunoglobulin production, resulting in the amelioration of disease symptoms in mice with experimental colitis.

By contrast, OPG-deficient mice are highly susceptible to Salmonella infection. Thus, OPG-dependent self-regulation of M cell differentiation is essential for the balance between the infectious risk and the ability to perform immunosurveillance at the mucosal surface.

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

US1-3 心血管保護因子としてのオステオプロテゲリン

○鶴田 敏博¹, 小出 雅則², 中道 裕子², 中村 美どり³, 宇田川 信之³, 北村 和雄¹

¹宮大 医 循環体液制御, ²松本歯大 総歯研, ³松本歯大 口腔生化

われわれは「骨—心血管」間の臓器連関に興味を抱き、これまで研究を行ってきた。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する可能性がある。OPG が遺伝的に欠損する若年性バジェット病患者に巨大な両側海面洞内頸動脈瘤の合併が報告される (AJNR Am J Neuroradiol 29:5-8, 2008)。

本シンポジウムでは、OPG 遺伝子欠損マウスを用いたわれわれの研究成果を紹介し、RANKL-RANK-OPG と心血管リモデリングの関連について皆様と情報を共有したい。

1. 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、加齢とともに左心室の内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。間質の線維化が乏しく、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。

2. OPG 遺伝子欠損マウスにアンジオテンシン II を投与すると大動脈破裂により死亡する個体が多かった。組織学的には OPG 欠損マウスの大動脈中膜にエラスチン線維の断裂箇所が増加した。大動脈を用いて遺伝子発現プロファイルを行うと、OPG 欠損マウスに特異的に発現亢進する細胞外マトリックス関連遺伝子があった。RANKL 過剰発現マウスでも同様の実験を行うも、大動脈破裂に至るマウスは少数であった。

OPG は心血管の構造維持 (特に細胞外基質) に重要な役割を担っている可能性がある。OPG が循環器疾患の治療標的となり得るか、さらなる検討を要する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US1-3 Osteoprotegerin: a possible protective factor for cardiovascular system

○Tsuruda T¹, Koide M², Nakamichi Y², Nakamura M³, Udagawa N³, Kitamura K¹

¹Dept Int Med, Circul Body Fluid Reg, Facult Med, Miyazaki Univ; ²Inst Oral Sci; ³Dept Oral 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 and vasculature. We explored the roles of OPG in cardiovascular system using OPG-deficient mice.

1. OPG-deficient mice displayed the elevated systemic blood pressure, left ventricular hypertrophy with reduced contractility, compared with wild-type mice with age. 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.

2. Angiotensin II stimulation of OPG-deficient mice led to a high mortality due to aortic rupture. Histological analysis showed fragmentation of elastic fibers in the medial layer. We also analyzed the PCR arrays, and found the specific alteration of genes associated with extracellular matrix.

These results suggest that OPG may have protective roles to maintain the structural integrity against angiotensin II, and it may be a potential therapeutic target for heart failure and aortic dissection.

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

US1-4 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松本歯大 総歯研, ³北大 院歯, ⁴北大 院医 整形外

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 は細胞膜上で DAP-12 と結合して破骨細胞の分化成熟シグナルを伝達すると共に、このシグナルには RANKL-RANK-OPG シグナルとのクロストークが存在することが報告されている。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。この結果から、Siglec-15 抗体は骨の成長に悪影響せず、安全に投与できる新しいメカニズムの骨粗鬆症治療薬になることが期待された。

そこで我々は抗 Siglec-15 ラットモノクローナル抗体とそのヒト化抗体を作製して、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 抗体を骨髄培養系に添加すると、単核破骨細胞の形成と共に 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。

US1-4 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

¹Specialty Med Res Lab 1, Daiichi Sankyo Co, Ltd; ²Div Hard Tissue Res Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ; ³Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ⁴Dept Orthop Surg, Hokkaido Univ Grad Sch Med

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. It has also been reported that there is crosstalk between the Siglec-15-DAP-12 signal and the RANKL-RANK-OPG signal during Oc differentiation. 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. The results indicate that the anti-Siglec-15 Ab could be a novel and safe anti-osteoporotic agent that does not have adverse effects on bone growth.

We produced an anti-Siglec-15 rat monoclonal Ab and produced a humanized anti-Siglec-15 Ab from the rat Ab; the pharmacological effects of these Abs 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 induced formation of mononuclear Ocs and strongly accelerated the differentiation and maturation of Obs in an *in vitro* bone marrow 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.

US2-1 顎顔面形成不全を伴う希少疾患の基礎研究 - 病態解明から診断, 治療法開発への展開 -

○黒坂 寛

阪大 院歯 顎顔面口腔矯正

先天性顎顔面形成不全は胎生期における顔面突起の様々な発生異常により引き起こされる疾患であり, 口唇口蓋裂, 歯牙形成不全や小顎症を始めとした非常に多様な表現型を示す. 顎顔面形成不全は希少疾患や未診断症例においても多く認められる事が知られており, 様々な臓器不全と共通する分子基盤や細胞生物学的メカニズムが存在する事を強く示唆する. また, 希少疾患はその症例数の少なさから疾患の発症メカニズムや治療方法等が common disease に対して遅れている事が多い. 当科では未診断疾患イニシアチブ (IRUD) と協力し顎顔面形成不全を伴う未診断希少疾患の遺伝的原因の探索を進めてきた. これまでに未診断であった症例に対して全エクソーム解析による新規遺伝子変異同定により偽性副甲状腺機能低下症や Baraitser-Winter 症候群等の確定診断を可能としてきた. いずれの症例においても過去に報告のない顎顔面の表現型を有しており, 今後は希少疾患においても顎顔面所見の積極的な発信を行う事で診断率の向上に貢献する事が可能と考えられる.

この様にして得られた遺伝子変異情報は適切なモデルを用いて機能解析を行う必要があり, 当科においてもマウス, ゼブラフィッシュ, 細胞株を用いた機能解析を展開している. 本演題では疾患モデルを用いた希少疾患の病態解明研究の結果や治療法開発における戦略を紹介する.

【利益相反】 著者は花王株式会社からの共同研究費を得ており, 利益相反状態にあります.

US2-1 Investigating the etiology of rare undiagnosed diseases with craniofacial deformities

○Kurosaka H

Dept Orthodont Dentfac Orthoped, Osaka Univ Grad Sch Dent

Craniofacial deformity comprises approximately 30% of congenital diseases. Cleft lip and palate, retrognathia, tooth anomalies are some of the representative phenotype of congenital craniofacial defects. Many rare undiagnosed disease are also known to associate with variety of craniofacial defects. In our clinic we are collaborating with Initiative of Rare and Undiagnosed Disease (IRUD) in order to reveal novel genetic cause of rare diseases by performing whole exome sequencing. As a result, we have detected some novel gene mutations in some undiagnosed patients and thus diagnosed these patients as pseudo hypoparathyroidism and Baraitser-Winter syndrome. Interestingly there were many unreported craniofacial defects in these patients which indicate the significance of precise description of craniofacial defects in rare diseases to improve the diagnosis rate.

We are also producing novel disease models using mice, zebrafish and cell lines to further investigate the molecular and cellular etiology of these rare diseases which possibly could lead into developing new therapeutic methods.

Conflict of Interest: The author declares conflict of interest associated with this manuscript with Kao Co., Ltd.

US2-2 A neurocristopathy dataset identifies novel genetic links to syndromic craniofacial and cardiac anomalies

Alharatani R^{1,2*}, Beleza-Meireles A^{1,5*}, Ji W³, Konstantino M³, Liu A¹, Khokha M⁴, Lakhani SA³, Hosey MT², Liu KJ¹

¹Ctr Craniofac Regen Biol, King's Coll London; ²Paed Dent, Ctr Oral, Clin Transl Sci, King's Coll London; ³Ped Genom Disc Program, Dept Pediat, Yale Univ Sch Med; ⁴Pediat Genom Discovery Program, Dept Genet Pediat, Yale Univ Sch Med; ⁵Clin Genet Dept, Guy's St. Thomas' NHS Found Trust (*These authors contributed equally.)

Congenital birth disorders caused by aberrant neural crest function are numerous, yet a large subset remains undefined. Craniofacial anomalies and heart disease often co-exist possibly due to their shared embryonic origins. The aim of this study was to identify novel candidate genes in patients with cranio-cardiac phenotypes and to develop new genome-phenome relationships. A Complementary Research Proposal (CAP180) was retrieved from the Deciphering Developmental Disorders Study (DDD), a proposal aimed at analysing craniofacial developmental disorders caused by defects in neural crest migration and differentiation. Within a subset of the CAP180, we identified a cranio-cardiac dataset exploring the relationship between craniofacial dysmorphisms and heart anomalies, filtered using proband phenotypes exome sequencing data to identify candidate genes intolerant to variation.

We then used mouse and human models to determine which candidate genes might be disease causing.

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

US2-3 神経堤細胞由来頭部間葉の分化について

Tri Vu Hoang¹, 武智 正樹¹, 清水 美希², 北沢 太郎², 東山 大毅², 岩瀬 晃康², 栗原 裕基², ○井関 祥子¹

¹医科歯科大 院医歯 分子発生, ²東大 院医 代謝生理化学

ほ乳類の主要な頭蓋冠骨である前頭骨と頭頂骨はそれぞれ神経堤細胞と中胚葉に由来し、発生過程において眼の上部に位置する間葉細胞集団 (SOM) から形成される。SOM は骨芽細胞へと分化して骨原基となり、マウスでは胎齢 13.5 日付近より頭頂部へ向かって拡大する。この骨原基拡大時期の前に頭頂部に存在する神経堤細胞由来頭部間葉 (EMM) は硬組織形成には関与せず、髄膜や真皮へと分化すると考えられている。頭蓋冠骨など頭部組織の形成に SOM と EMM の相互作用が必要であることが示されており、SOM の分化については精力的に研究されているものの、EMM の分化については未だ不明な点が多い。本研究では、マウス頭部神経堤細胞において、骨格形成促進機能を有する転写因子 *Dlx5* を強制発現 (*NCCDLx5*) させ、頭頂部組織の形成変化を解析して EMM の分化について検討した。

NCCDLx5 胎仔では前頭骨と頭頂骨形成に大きな変化は認められなかったが、異所性の骨と軟骨の形成が認められ、その分化マーカーは胎齢 11.5 日の頭頂部間葉において発現が認められた。SOM の拡大開始の時期を考慮すると、EMM が骨芽細胞と軟骨細胞に分化したと考えられた。また、髄膜と真皮のマーカー発現と比較すると、髄膜の硬膜形成層に軟骨が、それより表皮側にある真皮層に骨が形成されたと考えられた。野生型では胎齢 11.5 日の EMM に骨芽細胞抑制に機能する転写因子 *Msx2* が発現しており、正常発生ではこの *Msx2* が硬組織形成を抑制している可能性が考えられた。

これらの結果より、マウス EMM は胎齢 11.5 日までに髄膜と真皮への分化を開始すると示唆され、これは同一の骨格形成促進刺激によって異なる反応が起きることからも支持された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US2-3 *Dlx5*-augmentation in neural crest cells reveals early development and differentiation potential of mouse apical head mesenchyme

Hoang TV¹, Takechi M¹, Shimizu M², Kitazawa T², Higashiyama H², Iwase A², Kurihara H², ○Iseki S¹

¹Sect Mol Craniofac Embryol, Grad Sch Med Dent Sci, Tokyo Med Dent Univ; ²Dept Physiol Chem Metabol, Grad Sch Med, Univ Tokyo

The major part of mammalian calvarium is formed by apical expansion of supraorbital mesenchyme (SOM). Mesenchyme above the SOM, early migrating mesenchyme (EMM), does not show skeletogenic potential in normal condition. Although the SOM has been well investigated in development, timing and potential of differentiation of the EMM remain to be elucidated. In this study, we studied the effect of forced expression of *Distal-less homeobox 5 (Dlx5)*, a pro-skeletogenic factor, in mouse neural crest cells (*NCCDLx5*).

In *NCCDLx5* mice, heterotopic cartilage and bone seemed to be formed in different layers of head mesenchyme. Histological analyses revealed that both heterotopic structures began to form from embryonic day E11.5, the cartilage developed within the dura mater with increased *Pdgfra* expression, the bone in the dermis with upregulation of *Bmp* and *Wnt/β-catenin* signaling. The EMM partially express *Msx2* in the control, which suggests that osteogenic potential in dermal cells seemed to be inhibited by anti-osteogenic function of *Msx2* in normal context.

Taken together, we propose that after the initiation of non-skeletogenic commitment, the EMM begins to be divided into dermal and meningeal layers by E11.5 in normal development. Two distinct responses of the EMM, chondrogenesis and osteogenesis, to *Dlx5*-augmentation in the *NCCDLx5* strongly support this idea.

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

US3-1 部分的重複内頸静脈における考察○上村 守¹, 戸田 伊紀¹, 川島 渉¹, 角 陽一², 松本 尚馬¹, 諏訪 文彦¹¹大歯大 歯 解剖, ²大歯大 院歯 解剖

本学人体解剖学実習遺体において、右側内頸静脈が内・外側の2枝に別れ、部分的に重複する珍しい例に遭遇した。頸静脈孔から下行した右側内頸静脈（径15 mm）は、胸鎖乳突筋の上縁に達し、ついで第5頸椎の椎体中央の高さで、胸鎖乳突筋の内側面に接して、内・外側の2枝に分岐していた。内側枝（径13 mm：mi）は、総頸動脈に沿ってその外側を58 mm下行し、第1胸椎の椎体中央の高さで右側鎖骨下静脈（径12 mm）と合流して右側腕頭静脈を形成していた。外側枝（径10 mm：li）は、miの外側を60 mm下行し、第1胸椎の椎体中央の高さで、miの合流位置よりも14 mm外側で、鎖骨下静脈へ注いでいた。また、liが鎖骨下静脈に注ぐ直前で外頸静脈が注いでいた。mi, liおよび右側鎖骨下静脈によって、内・外側枝の2辺が50 mm、鎖骨下静脈の底辺が5 mmの二等辺三角形の細長い間隙が形成されていた。間隙内の上部を肩甲舌骨筋下頭、頸神経ワナが通過していた。miが頸部体幹筋である肩甲舌骨筋より内側に位置し、さらに右リンパ本幹がmiと鎖骨下静脈の合流部位の後面に注いでいたことから、miが内頸静脈本幹であると考えられた。

本例は、miが本来の内頸静脈であり、liがないと考えれば、内頸静脈の外側に肩甲舌骨筋と頸神経ワナが位置し、成書の記載にみられる通常の形態となる。肩甲舌骨筋より外側にある静脈は、皮静脈と考えられている。liは、肩甲舌骨筋の外側に位置していた所見から、頸部皮静脈に由来すると考えられる。頸部皮静脈である前頸静脈は、外頸静脈あるいは内頸静脈に流入する。本例の前頸静脈は、liに流入していた所見から、liは外頸静脈に由来する皮静脈と考えられる。

以上のことから、外頸静脈に由来するliは、外頸静脈と内頸静脈間の交通枝であると考えられた。さらに、頸神経ワナの外側にliが位置していた所見から、内・外頸静脈間交通枝は、頸神経ワナの形成される位置よりも高位で内頸静脈と交通してliとなったと考えられた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US3-1 Consideration of partial and double internal jugular veins○Uemura M¹, Toda I¹, Kawashima W¹, Sumi Y², Matsumoto S¹, Suwa F¹¹Dept Anat; ²Grad Sch Anat, Osaka Dent Univ

We present a very rare case of right partial and double internal jugular veins during our student dissection practice session. The right internal jugular vein separated into the medial branch (mi) and lateral branch (li) at a level with the middle of the fifth cervical vertebra. The mi descended parallel with the lateral side of the common carotid artery. The right brachiocephalic vein began from the confluence between the mi and the right subclavian vein. The li descended 60 mm on the lateral side of the mi, joined the right subclavian vein. The distance between the middle points of the mi and li was 14 mm. The mi, the li and the right subclavian vein formed the slender venous space. The shape of the venous space was an isosceles triangle. The inferior belly of the omohyoid muscle and the inferior root of the ansa cervicalis passed through the superior region in this venous space.

We considered that the li was a cutaneous vein originating from the external jugular vein, and the communicating branch between external and internal jugular veins.

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

US3-2 舌神経の解剖学的研究

○下高原 理恵, 峰 和治, 田松 裕一

鹿大院医歯 解法歯

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, 舌内での分布を肉眼解剖学的に明らかにすることを目的とする. 鹿児島大学歯学部解剖学実習に供された成人遺体の10体の口腔顎顔面領域20側を使用した. 翼突下顎隙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. 舌神経の側枝は, 口蓋舌弓と下顎第3大臼歯に囲まれる口腔粘膜に分布する形態が全ての材料で観察され, 舌神経から派生する側枝の数は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到達する前に舌下神経との最も近位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, 全3か所で観察された. これらの観察より, 下顎第3大臼歯部の口腔粘膜の知覚は舌神経からの分岐により支配されてい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走向形態を熟知しておくことは, 当該部位に関連する局所麻酔や口腔内の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】 著者は利益相反がないことを宣言する.

US3-2 Anatomical study of the lingual nerve

○Shimotakahara R, Mine K, Tamatsu Y

Dept Gross Anat Forensic Dent, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

The purpose of this research is to obtain morphological information of the lingual nerve which are important when performing oral surgical procedures. Using twenty sides from ten Japanese cadaveric heads, we observed the lingual nerve from the merging point with the chorda tympani to the peripheral terminal in 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 eight 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.

A thorough understanding of the collateral branches in proximity to the tongue, will be of significance for preventing functional disorders from local anesthesia and oral surgical procedures associated with the lingual nerve.

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

US3-3 舌神経～神経線維解析による新規所見～

○竹澤 康二郎, 影山 幾男

日歯大 新潟生命歯 解剖 1

舌神経は下顎神経の終枝の一つであり口腔底, 下顎歯肉, 舌前 2/3 の知覚をつかさどり, この神経は顔面神経の枝である鼓索神経から味覚線維と節前性分泌線維を受け取る. このうち節前性分泌線維は舌神経から顎下神経節に連絡し, 節後線維と中継し腺枝として顎下腺へ入り, 一部は再び舌神経へ戻り舌下腺に分布するとされる.

実際の剖出所見では, 舌神経はほぼ半数において下歯槽神経の枝である顎舌骨筋神経からの交通枝を受けるが, 神経の分布域を理由として交通枝は顎舌骨筋神経を経由した感覚線維と一般的に認識されている. 舌神経はよく知られた神経であるが注意深く観察してみると顎舌骨筋神経からの交通枝は顎下神経節直近で合流することが分かる.

この所見が何を意味するかを解明する為に舌神経および顎下神経節を神経線維解析の手技を用いて観察した. 神経線維解析の結果, 舌神経の中には神経線維束の特徴的な構造が確認された. 特に顎下腺および舌下腺への節後線維が節前線維から中継される顎下神経節では基本的には顎下腺への節後線維のみが中継され, 舌下腺へ分布する節後線維は舌神経の本幹の中に埋まる様に存在する顎下神経節とは別の神経節(舌下神経節)で中継されることが確認された. 加えて顎舌骨筋神経から舌神経に合流する神経線維は主として顎下神経節および舌下神経節に走行することも確認された.

これら所見は舌神経および顎下神経節の中は一般的に知られているような構造ではなく, 未知の神経線維のルートが存在することを示している.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

US3-3 Newly findings of the lingual nerve using nerve fiber analysis

○Takezawa K, Kageyama I

Dept Anat 1st, Sch Life Dent at Niigata, Nippon Dent Univ

The lingual nerve is terminal branch of the mandibular division of the trigeminal nerve, which is commonly described that it supplies sensory innervation to the mucous membrane of the floor and side wall of the mouth, mandibular gum and the tongue. The lingual nerve receiving the chorda tympani nerve from the facial nerve and connected to the submandibular ganglion by a few branches. It carries preganglionic fibers from the chorda tympani nerve and postganglionic fibers to the submandibular and sublingual glands.

In generally, a branch from the mylohyoid nerve was observed in approximately 50% cases, and the branch was described as a sensory nerve. However, this branch is connected closely to the submandibular ganglion.

Therefore, we observed fine structures of the lingual nerve using nerve fiber analysis technique and discovered the route of fine fascicles of nerve fibers and buried ganglion in the lingual nerve. Additionally, we found that preganglionic fibers to the sublingual gland are relayed at buried ganglion called “the sublingual ganglion”.

These findings help to understand the structure and function of both the lingual nerve and the submandibular ganglion, more precisely.

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

US3-4 側頭骨内における鼓索神経の走行の再検討

○藪村 貴弘¹, 加納 隆¹, 岩田 哲成², 勝又 明敏²

¹朝日大 歯 解剖, ²朝日大 歯 放射線

鼓索神経は顔面神経の枝で、舌の前 2/3 の味覚および副交感神経性の顎下腺と舌下腺の分泌を支配する要素を含むことから、頭頸部外科や口腔外科などの臨床的にも重要な神経である。多くの成書では、鼓索神経は側頭骨の顔面神経管内において茎乳突起の 6 mm 前で顔面神経から「前上方」に分枝し、鼓索神経小管を通過して鼓室に出ると記載され、その記載に則した解剖図が描き添えられている。しかし御遺体を実際に解剖すると、側頭骨内の鼓索神経は顔面神経に対して「前上方」ではなく、「外上方」に分枝することがほとんどである。

そこで、その走行を実際の御遺体の解剖所見と併せて、生体の Multislice CT 像を用いて三次元的に解析して、従来の成書の記載の妥当性を再検討した。まず、本学に献体された解剖実習体 5 体の左側頭頸部を 1 N 塩酸を用いて脱灰後、内頭蓋底の内耳道から顔面神経管を追跡し、顔面神経管の垂直部は後方から前額断で開放し茎乳突起付近で鼓索神経小管の基部を明らかにし、鼓室に至るまでの走行を確認した。さらに、より正確に鼓索神経の走行を解析するために、成人 10 名の頭部 CT を撮影し、三次元再構築ソフトを用いて顔面神経管と鼓索神経小管の走行を三次元的に再構築したところ、鼓索神経は顔面神経管本幹に対して相対的に約 13° 外側に傾斜し、また約 11° 前方に傾斜して走行していた。

これらの結果から、多くの解剖学の成書にあるような鼓索神経が「前上方」に分枝するという記載は正確とは言い難く、剖出する際には、後方から前額断で鼓索神経にアプローチすることが望ましい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US3-4 A reconsideration of the course of chorda tympani in the temporal bone

○Sonomura T¹, Kanou T¹, Iwata T², Katsumata A²

¹Div Anat; ²Div Oral Maxillofac Radiol, Asahi Univ Sch Dent

The chorda tympani contains taste fibers and efferent preganglionic parasympathetic fibers for the submandibular and sublingual salivary glands. In most of textbook, chorda tympani leaves the facial nerve about 6 mm above the stylomastoid foramen, ascending forwards in a canal to perforate the posterior wall of the tympanic cavity via its posterior canaliculus near the posterior border of the tympanic membrane's medial aspect, level with the upper end of the handle of the malleus.

However, we have observed chorda tympani leaves laterally in the temporal bone with cadaver dissection. Furthermore, facial nerve and chorda tympani were reconstructed three-dimensionally using CT image. The chorda tympani inclined laterally about 13 deg and forwardly about 11 deg to facial nerve.

These results support that the appropriate way to specify chorda tympani is to approach from the posterior using the coronal plane.

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

US4-1 発生過程の解明に基づく唾液腺再生への可能性

○皆木 瞳^{1,2}, 宇佐美 悠³, 酒井 学⁴, 大内 淑代¹, 阪井 丘芳⁵

¹岡大 院医歯薬 細胞組織, ²日本学術振興会, ³阪大 院歯 口腔病理, ⁴阪大 検査, ⁵阪大 院歯 顎治

組織再生における分化過程は胚発生と同様の現象があり, 再生医療を実現するためには発生学的な知見を積み上げることが大切であることが知られている。唾液腺の分野でも再生医療に関する多くの報告があるが, 未だその実現は困難である。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, 唾液腺の発生過程にまだ未知の領域が多いということが問題としてあると考えられる。

そこで唾液腺の再生過程が発生過程と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, 胎仔唾液腺と損傷唾液腺を用いた比較研究を行った。まずは損傷唾液腺として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, 神経を時系列に沿って免疫組織染色を行った。また細胞増殖マーカーである Ki67 を用いて組織毎の細胞増殖パターンの解析を行った。その結果, 唾液腺の再生過程と発生過程ではそれぞれ組織毎に異なったタイミングと増殖パターンで細胞増殖がおり, また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再生過程は一概に発生過程をそのまま模倣しているわけではなく, 再生と発生過程にはそれぞれ異なったマーカーの発現パターンを示すことが示された。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。またより臨床的な解析も同時に進めており, 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。

US4-1 Possibility to the salivary gland regeneration based on the developmental process

○Minagi-Ono H^{1,2}, Usami Y³, Sakai M⁴, Ohuchi H¹, Sakai T⁵

¹Dept Cyto Hist, Pharm Sci, Okayama Univ Grad Sch Med Dent; ²JSPS Res Fellow; ³Dept Oral Pathol; ⁴Clin Labo; ⁵Dept Oral-Facial Disord, Osaka Univ Grad Sch Dent

Most animals and organs have regenerative capabilities. Whether regeneration is part of the development of an animal or a distinct phenomenon independent of development is debatable. We examined the differences between developing and regenerating salivary glands using duct-ligation models.

We performed morphological analyses comparing salivary glands regeneration and development. To reveal the proliferation processes that occur during salivary gland regeneration and development, we counted the number of Ki67-positive cells over time. In addition, we examined the expression of the following markers: aquaporin 5(AQP5), smooth muscle actin (SMA), cytokeratin 7(CK7), and tubulin beta 3(Tubb3). The proliferation patterns seen during regeneration differed from those observed during development. Different salivary gland marker expression patterns were seen during development and regeneration.

This study showed that regenerating salivary glands do not follow the same growth process as developing salivary glands.

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

US4-2 唾液腺の分泌機能を亢進する因子の検索

○横山 愛, 加藤 治, 吉垣 純子

日大松戸歯 生理

頭頸部に位置する大唾液腺は左右対称に一对ずつ存在する。唾液腺には片側の唾液腺が分泌機能を失うと反対側の唾液腺がその機能を亢進するなどして代行する代償作用があることが知られている。しかし、そのメカニズムは未だ明らかになっていない。我々は口腔乾燥症を改善することを目的として、唾液腺の代償作用に注目し片側に傷害を受けた唾液腺がどのように分泌機能を亢進させるのかを明らかにしたい。以前に、片側耳下腺に傷害を与えると細胞増殖能が傷害側の耳下腺だけでなく非傷害側の耳下腺でも増加することを報告している。このことから、傷害側と非傷害側の唾液腺間では何らかの情報伝達経路が存在することが推察される。我々は非傷害側の唾液腺が分泌機能を亢進させるメカニズムとして、傷害された唾液腺から分泌を亢進させるような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し、その分泌機能を亢進させるという仮説を立てて研究を進めている。

これまでにマウスの片側耳下腺排泄導管を結紮し、これを傷害として片側耳下腺の傷害モデルマウスを作製した。結紮7日目の傷害側と非傷害側の耳下腺を用いてDNAマイクロアレイを用いた解析を施行した。コントロールの耳下腺と比較して、傷害側の耳下腺で発現量が増加した遺伝子の中から分泌機能亢進因子の候補の抽出を行った。今回我々は、細胞の分化や増殖に関わる遺伝子として知られている *Bmp2* を唾液腺機能亢進因子の候補として更に検討を進めることとした。

今回のシンポジウムでは、実験の方法を含めこれまでに行っ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】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US4-2 Search for salivary gland function enhancing factor

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

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo

The major salivary glands located in head and neck area are symmetrically distributed in pairs. The salivary glands are among the organs that have a compensatory action. However, the mechanism has not been clarified yet. For purpose of improving xerostomia, we focus on the compensatory action of salivary glands and attempt to clarify how contralaterally damaged salivary glands enhance its secretory function. As a mechanism that enhances the secretory function of the salivary gland in the non-injured side, we assume that some humoral factors from injured side act to non-injured side through the blood.

We previously reported that expression level of cell proliferation marker was increased in injured and non-injured sides of the salivary glands in comparison with control mice. We performed microarray analysis in injured side and non-injured side of mouse parotid glands. Then we investigated genes whose expression levels were higher than control. From these genes, *Bmp2*, which is known as cell differentiation/proliferation, was selected as a candidate for a salivary gland secretion promoting factor.

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

US4-3 ラット摘出膵臓の内外分泌能におけるトリプシン活性阻害の影響

○森田 亜州華¹, 大内 基司¹, 佐藤 慶太郎^{2,3}, 藤田 朋恵¹

¹獨協医大 医 薬理, ²明海大 歯 薬理, ³朝日大 歯 薬理

膵臓は糖代謝の調節と消化液の分泌などの様々な機能を担う臓器であり、内分泌腺と外分泌腺から構成される。内分泌腺はインスリンなどのホルモンを分泌し、外分泌腺はアミラーゼやトリプシンなどの消化酵素を分泌する。これまで内分泌能と外分泌能は別々に評価されることが多かった。しかし、膵臓は内外分泌能を備える一つの臓器であり、両分泌能を並行して評価することが膵臓を理解する上で重要と考える。

今回我々はラットの膵臓をオルガンバス実験系に応用し、刺激に対し内外分泌能を同時に評価できる実験系を構築した。ラットの摘出膵臓をオルガンバス内につるし、一定間隔で栄養液を交換して栄養液中に分泌された物質を測定した。内分泌能にはインスリンを、外分泌能にはアミラーゼ活性を評価した。栄養液に染色液を入れると染色液が膵臓の深部まで浸透したことから、栄養液内の物質は膵臓全体に行きわたることを確認した。グルコースおよびインスリン分泌誘導ホルモン Glucagon like peptide-1 の添加によりインスリン分泌の増加を認めた。一方、アミラーゼ分泌に変化は認めなかった。オルガンバス内の膵臓の障害程度を評価するために HE 染色を行った。内分泌細胞の変性は認めなかったが、外分泌細胞の一部に変性を認めた。栄養液中に、膵由来と考えられるトリプシンの酵素活性を認めた。トリプシンインヒビター (TI) を栄養液に添加したところ、変性外分泌細胞像の減少傾向を認めたが、アミラーゼ分泌に変化は認めなかった。一方、インスリン分泌は増加した。さらに、膵β培養細胞では TI のインスリン分泌誘導効果を認めなかった。よって、TI 添加によるインスリン分泌の増加は内分泌能の改善によることが示唆された。

これらの検討より本実験系が化合物に対する内外分泌能の同時評価に有効である可能性が示され、かつ TI に対する内外分泌の応答の違いが示唆された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US4-3 Effects of trypsin inhibition on endocrine and exocrine secretions in rat pancreas

○Morita A¹, Ouchi M¹, Satoh K^{2,3}, Fujita T¹

¹ Dept Pharmacol, Dokkyo Med Univ Sch Med; ² Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent; ³ Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent

The pancreas is composed of two different glands, a hormone-secreting endocrine gland and a digestive enzyme-secreting exocrine gland. Generally, endocrine and exocrine functions are evaluated separately. However, as the pancreas is a single organ, it is important to evaluate both secretions simultaneously.

For this purpose, we developed an *ex vivo* method using rat pancreas and the organ bath technique. Insulin and amylase released into the organ bath were measured. This method could detect insulin release-induced glucose and glucagon-like peptide-1. They had no effect on amylase release. Pancreatic damage was assessed by hematoxylin and eosin staining. Although there was no change in endocrine cells, acinar cell degeneration was observed. Trypsin activity was detected in the medium, and the pancreases were treated with trypsin inhibitor (TI). TI suppressed exocrine damage but had no effect on amylase release. In contrast, insulin secretion was increased. As TI did not induce insulin secretion in the cultured cells, the increase in insulin release might be due to improved endocrine functions.

These results suggested that this method could be used to assess the effects of compounds on both endocrine and exocrine functions, and that the effects of TI differed between endocrine and exocrine cells.

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

US4-4 モデル動物を用いた網羅的遺伝子発現解析による涙液分泌能低下原因の探索○大野 雄太¹, 佐藤 慶太郎², 設楽 彰子¹, 柏俣 正典¹¹朝日大 歯 薬理, ²明海大 歯 薬理

シェーグレン症候群は、涙腺や唾液腺といった外分泌腺における慢性炎症を伴う自己免疫疾患であり、外分泌能の低下からドライアイやドライマウスなどのドライ症状を呈する。これまで炎症の観点からの研究が盛んに行われているが、未だ原因療法の開発には至っていない。Non-obese diabetic (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、シェーグレン症候群モデル動物として応用されている。本研究は、雄性 NOD マウスの涙腺を用いて、RNA-seq による網羅的遺伝子発現解析を行い、炎症の観点を超えて涙液分泌能低下の原因を探索することを目的とした。

雄性 NOD マウスにおいて、ピロカルピン投与により涙液分泌低下週齢を検討した。併せて、涙腺への炎症性細胞の浸潤が出現する週齢を検討した。その結果、6 週齢頃から涙液分泌が低下し、同時期より炎症性細胞の浸潤も確認された。そこで、涙液分泌低下および涙腺炎の発症前（4 週齢）、発症早期（6 週齢）、発症後期（10 週齢）において、NOD マウスと対照（BALB/c）マウスの涙腺から RNA を抽出し、RNA-seq を行った。NOD マウスの涙腺において、6 週齢以降多くの炎症関連遺伝子の発現が増加していたのに対し、6 週齢以降減少した遺伝子は 4 遺伝子のみであった。発現減少した 4 遺伝子のうちの 1 つ（因子 X）に着目して解析を進めたところ、因子 X の発現は涙腺炎の有無にかかわらず NOD マウスにおいて低発現であり、涙液分泌も低下していた。さらに、因子 X の阻害剤を BALB/c マウスに投与したところ、涙液分泌量が低下した。

これらの結果から炎症の関与の如何に関わらず、因子 X の発現量の減少が涙液分泌能低下に関与する可能性が浮上した。涙液分泌能低下機序の解明には、炎症の観点を超えて因子 X がどのように涙液分泌に関与するのか解明する必要がある。現在その解析を進めており、今後の計画と共に報告する予定である。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US4-4 Lacrimal hyposalivation-related factor revealed by transcriptome analysis.○Ohno Y¹, Satoh K², Shitara A¹, Kashimata M¹¹Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent; ²Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent

Sjögren's syndrome (SS) is a disease that presents dry eye with chronic inflammation of lacrimal gland. To date, there have been many studies from the viewpoint of inflammation, whereas the causal treatment of SS has not been established. Non-obese diabetes (NOD) mice, which present a leukocytic infiltrate of exocrine glands, are used as SS model. In this study, we explored lacrimal hyposalivation-related factors by transcriptome analysis using male NOD mice from the different viewpoint of inflammation.

First, we investigated the age of onset of lacrimal hyposalivation, and then performed RNA-seq analysis of lacrimal gland of NOD mice before and after onset. Lacrimal hyposalivation and dacryoadenitis were occurred almost simultaneously. After onset of these two symptoms, only 4 genes were downregulated, whereas many genes related to inflammation were upregulated. We focused on one of downregulated genes (factor-X) and revealed that the factor-X was downregulated regardless of dacryoadenitis in NOD mice accompanied with lacrimal hyposalivation. Furthermore, the inhibitor of factor-X induced lacrimal hyposalivation in mice with normal lacrimal secretion.

These results indicated that the factor-X provide a basis of lacrimal hyposalivation regardless of dacryoadenitis. In this symposium, I would like to introduce our findings and future plan of this study.

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

US4-5 涙液分泌能低下への予防に向けた食品素材の探索～ブルーベリー葉の可能性

○小川 健二郎¹, 大野 雄太², 山田 孝之³, 前田 咲³, 佐藤 慶太郎⁴, 柏保 正典²

¹宮大 農学系テニュアトラック, ²朝日大 歯 薬理, ³宮大 農学 食品, ⁴明海大 歯 薬理

シェーグレン症候群 (Sjögren's syndrome: SS) はドライアイやドライマウスなどのドライ症状を引き起こす難病の一種である。SSは加齢に伴い徐々に病態が進行する疾患であるため、予防法や、より早期からの治療法の確立が求められている。健康食品は日常的に継続して摂取が可能で、発症以前から摂取し、その予防効果が期待できる。一般的に目に良い食品素材としてはブルーベリー果実（あるいはビルベリー果実）がよく知られるが、宮崎県ではポリフェノールを高含有するブルーベリー葉 (Blueberry leaf extract: BLEx) の栽培および抽出物の健康食品開発に取り組んできた。BLExは抗酸化作用や抗腫瘍作用、抗肥満作用、脂肪肝抑制作用や血圧降下作用など、機能性素材として高い機能を有している。一方で、目に関する研究報告は未だ少ないが、臨床試験（オープン試験）において、涙液安定性や角膜上皮の有意な改善、眼精疲労や目の乾きなどの自覚症状の改善が確認されている。

しかし、SSに対する有効性について、BLExをはじめ健康食品では現在報告がないことから、我々は、SSの涙液分泌能低下に対し予防効果を有する食品素材として、まずはBLExに注目して現在研究を進めている。試験は雄性 non-obese diabetic (NOD) マウスを用いたSSモデルを採用し、BLExを1%含む餌をマウスに2または6週間継続的に摂取させた。その後、涙液分泌量を測定し、涙腺組織を採取して組織評価を行った。本発表では現在までの試験結果を報告する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US4-5 Functional food materials for prevention of lacrimal hyosecretion – Potential effect of blueberry leaves

○Ogawa K¹, Ohno Y², Yamada T³, Maeda S³, Satoh K⁴, Kashimata M²

¹Agric Food Sci, Miyazaki Univ Tenure track; ²Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent; ³Dept Biochem Applied Biosci, Miyazaki Univ Fac Agric; ⁴Dept Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent

Sjögren's syndrome (SS) is an incurable disease which causes dry eye and dry mouth symptoms. SS symptoms gradually appear with aging; thus it is necessary to establish methods for prevention and/or care of SS from early stage. Functional foods, which may prevent some diseases, are safe for daily intake. In Miyazaki, the extract of blueberry leaves (BLEx) has been studied for development of health food material. BLEx, which contains polyphenols, is known to have several functions such as an anti-tumor effect, prevention of fatty liver, and hypotensive effect. In eye health field, a clinical trial previously showed that BLEx improved tear fluid stability, corneal epithelium status and subjective symptom of dry eyes. However, functional foods (including BLEx) have not been investigated on lacrimal hyosecretion of SS.

Thus, we investigated the effect of BLEx on lacrimal hyosecretion of SS. Male non-obese diabetic (NOD) mice, which is used as lacrimal hyosecretion model of SS, were continuously fed AIM93G feed containing 1% of BLEx for 2 or 6 weeks. Then, tear volume was measured, and lacrimal glands were collected for histological evaluation. In this symposium, I would like to introduce the current our results of BLEx on lacrimal hyosecretion.

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

US5-1 ソニック・ヘッジホッグとその下流因子による頭蓋顎顔面の形態形成

○武智 正樹

医科歯科大 院医歯 分子発生

細胞表面の一次繊毛で発現する分泌因子 Sonic hedgehog (Shh) やその下流因子の異常は全前脳症や繊毛症などの頭蓋顔面や顎口腔領域の形態異常を引き起こす。Shh を完全欠失させた変異マウスは頭部全体がほぼ形成されないため、頭蓋顎顔面の形態形成における Shh の役割はいまだ不明な点が多い。

我々は Shh の発現部位ごとの役割を明らかにするため、まず組織特異的に Shh を欠失させた2種類の変異マウス胎仔の形態を比較した。前脳と中脳腹側神経上皮の一部で Shh を欠失させたマウス (*Sox1-Cre;Shhfl/fl*) では、頭蓋冠、頭蓋底、眼窩、鼻殻等の骨・軟骨頭蓋形成の異常が顕著で、下顎骨や耳小骨の形成は正常であった。一方、前脳腹側の神経上皮と口腔・咽頭上皮で Shh を欠失させたマウス (*Isl1-Cre;Shhfl/fl*) では、下顎骨、耳小骨や口蓋骨の完全消失に加え、鼻殻、上顎骨を含む顔面領域に重度の形成異常が認められた。これらの結果から、神経上皮の Shh は主に脳や眼球周囲の骨・軟骨形態形成に、口腔・咽頭上皮の Shh は主に顔面領域や口蓋、下顎全体の形態形成にそれぞれ関与していると考えられた。

次に、Shh の下流因子の一つとされるフォークヘッド転写調節因子 *Foxc1* と *Foxc2* に着目した。両遺伝子は頭部間葉で同様の発現パターンを示すため、機能的重複が示唆されている。神経堤細胞特異的に両遺伝子を欠失させたマウス (*Wnt1-Cre;Foxc1fl/fl;Foxc2fl/fl*) を作出したところ、蝶形骨や耳小骨を含む中頭蓋底領域がほぼ消失した。また、この表現型の一部が *Isl1-Cre;Shhfl/fl* マウスの表現型に類似していたことから、Shh により誘導された *Foxc1/2* 遺伝子が協調して当該領域の形態形成を担っていることが示唆された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US5-1 Craniofacial morphogenesis by Sonic hedgehog and its downstream targets

○Takechi M

Dept Mol Craniofac Embryol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

The Sonic hedgehog (Shh) signaling pathway plays a fundamental role in craniofacial development. However, the severe craniofacial defects in early developmental stage in the *Shh*^{-/-} mutant mouse model has made it difficult to understand roles of Shh in detail.

In this study, we examined the mouse in which *Shh* is specifically ablated in the forebrain and midbrain epithelia (*Sox1-Cre;Shhfl/fl*) and in the forebrain and oropharyngeal epithelia (*Isl1-Cre;Shhfl/fl*). Based on the phenotypes in these mouse models, we found that *Shh* in the cranial neuroepithelium and oropharyngeal epithelium are involved in development of brain and skeleton around the eye, and of the upper and middle face, palate, and mandible, respectively. *Forkhead-box transcription factor c1* (*Foxc1*) and *c2* (*Foxc2*) are known as downstream targets of Shh. Since these genes exhibit similar spatiotemporal expression pattern in the cranial neural crest cells (CNCC) during embryonic development, we examined the mouse in which *Foxc1/2* are ablated specifically in the CNCCs (*Wnt1-Cre;Foxc1fl/fl;Foxc2fl/fl*).

We found that the middle cranial base including the sphenoid and middle ear bones was almost completely lost, suggesting that *Foxc1/2* play an essential role in the middle cranial base in a concert manner.

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

US5-2 骨微小環境における骨基質 miR-125b の役割

○南崎 朋子, 吉子 裕二

広大院医 (歯) 硬組織代謝生物

マイクロ RNA (miRNA) は 21-25 塩基長の一本鎖非翻訳 RNA 分子で, 一般に RNA 誘導サイレンシング複合体 (RISC) を形成した後, 標的遺伝子と結合し, mRNA を不安定化あるいは翻訳抑制することでタンパク質の産生を抑える. この十数年の間, miRNA の研究は飛躍的に発展し, miRNA が細胞内のみならず, 細胞外小胞を介して受容細胞の遺伝子発現を制御することが明らかになってきた. 我々は骨芽細胞に発現する miRNA が基質小胞に内包され, 骨基質に運搬されること, そのうちの少なくとも一部は骨基質に貯蔵されることを見出した. ここでは, miR-125b にフォーカスし, 我々の知見のいくつかを紹介して骨微小環境に適応した miRNA の役割について論じてみたい.

基質小胞に取り込まれた miR-125b は, 骨形成とともに骨基質に蓄積すると考えられる. 骨芽細胞特異的に miR-125b を過剰発現する Tg マウスは, 胎生期から骨内膜側の骨吸収が抑制されるものの, 骨形成や軟骨形成に影響を及ぼさなかった. Ex vivo において, 骨基質の miR-125b は骨吸収によって放出され, マクロファージに取り込まれ, 破骨細胞分化を抑制した. このモデルにおいて, miR-125b は *Prdm1* を標的とし, 下流の破骨細胞抑制因子を介して NFATC1 を下方制御すると考えられる. 一方, 骨分化や骨形成には特筆すべき影響は見られなかった. Tg マウスは成長とともに海綿骨を主体とした骨量増加を示し, 骨量, 骨質, 骨強度の加齢変化が軽減された. 骨粗鬆症, 骨転移, 骨折などの病態モデルでの所見についても触れてみたい.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

US5-2 The role of bone matrix miR-125b in the bone microenvironment

○Minamizaki T, Yoshiko Y

Dept Calcif Tissue Biol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

Micro RNAs (miRNAs), small non-coding RNA molecules, bind to target mRNAs and destabilize mRNAs or suppress protein expression. We found that miRNAs including miR-125b expressed in osteoblasts were encased in matrix vesicles and transferred to bone matrix, at least some of which were stored in bone. In this session, we describe some our findings of miR-125b and mention its accommodation in the bone microenvironment.

miR-125b encased in matrix vesicles appears to accumulate in bone matrix during bone formation. Transgenic (Tg) mice overexpressing miR-125b in osteoblasts revealed decreased bone resorption on the endosteal side with normal bone formation at early developmental stages. In an ex vivo model, miR-125b was released by bone resorption and incorporated into macrophages, resulting in the suppression of osteoclastogenesis. miR-125b may target *Prdm1* and the resultant increases in anti-osteoclastogenic factors, followed by an inhibition of NFATC1. Tg mice showed an increase in trabecular bone mass as they grew, and mitigated age-related bone loss and deterioration in bone quality and strength. These findings were closely correlated with the usefulness of miR-125b in bone disease models, such as osteoporosis, bone metastasis and fracture healing.

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

US5-3 歯牙形成過程におけるエクソソーム関連タンパク質の発現と局在

○福島 美和子, 藤川 芳織, 井上 知, 中村 雅典

昭大 歯 口腔解剖

歯牙の形成過程における象牙芽細胞由来のエクソソームの役割は明らかでない。我々は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、in vitro における歯髓細胞の初代培養系にエクソソーム阻害剤 (GW4869) を添加したところ、石灰化が促進された。この結果から、エクソソームが歯髓ならびに象牙芽細胞の機能を制御する可能性があると考え、エクソソーム関連タンパク質のマウス歯牙における発現と局在の変化を検討した。RT-PCR 解析および Western blotting で、マウス切歯の歯髓組織に CD63 を始めとするエクソソームマーカーの発現が確認された。

次に、代表的なエクソソームマーカーである CD63 に焦点を絞って解析した結果、マウス切歯に対する蛍光免疫染色では、唇側 (歯冠象牙質相当部) においては象牙芽細胞ならびに直下の細胞に CD63 の発現が見られたのに対し、舌側 (歯根象牙質相当部) では象牙芽細胞にのみ発現が見られた。また、歯髓組織全体では、切端側に移行するにしたがって CD63 の発現が強かった。臼歯歯胚においては、胎生 18 日齢の咬頭先端部の象牙芽細胞から発現がみられた。その後の歯冠部ならびに歯根部ともに象牙芽細胞ならびにその直下の細胞の CD63 の発現は切歯と同様であったが、歯髓組織は、生後 10 日の歯胚以降で発現が認められた。

以上、エクソソームは象牙芽細胞分化と象牙質の形成過程並びに歯髓組織の分化に関与し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。

US5-3 Exosome-related proteins in developmental stages of mouse odontoblast cells

○Matsuki-Fukushima M, Fujikawa K, Inoue S, Nakamura M

Dept Oral Anat Dev Biol, Showa Univ Sch Dent

To reveal the role of exosome in odontoblast during tooth development, we first determined the effect of an exosome-releasing inhibitor on mouse primary dental pulp cells in vitro. The inhibitor, GW4869, accelerated calcification of primary dental pulp cells. This result suggested that exosome release might be important for dentin formation. Next, we explored exosome-related gene expression in mouse dental pulp tissue. In RT-PCR, gene transcripts of exosome-related proteins were positive in mouse dental pulp. A major exosome-related protein, CD63, was recognized in Western blotting, too.

Then, we investigated localization of CD63 in mouse incisor and molar tooth by using of laser scanning microscopy. In adult mouse incisor, anti-CD63 antibody was positive in mature odontoblast and dental pulp cells but not in pre-odontoblast layer. Also, anti-CD63 antibody was positive as dot-like pattern in apical area of odontoblast cytosol and Tomes's fiber. During morphogenesis of mouse mandible molar tooth (E18-6W postnatal), labelling of anti-CD63 antibody was started to observe in odontoblast at E18. On the other hand, anti-CD63 antibody was positive in dental pulp after postnatal day 10.

These results suggested that CD63-positive vesicular organelle is important to mouse tooth morphogenesis.

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

US5-4 歯周病原菌 - マクロファージ間コミュニケーションに起因する全身疾患発症機構

○吉田 賀弥¹, 岡村 裕彦²

¹徳大 院医歯薬 口腔保健教育, ²岡大 院医歯薬 口腔形態

多くの疫学的・臨床的研究により, 歯周病が糖尿病や関節リウマチ, 慢性閉塞性肺疾患 (COPD) などの, 多岐の全身疾患の発症リスクを亢進させると判明している. 一方で, 口腔内の慢性炎症 (歯周病) が遠隔臓器の病態 (全身疾患) に影響する機構の詳細は解明されていない.

歯周病は歯周病原菌の感染により起こる感染症であり, 慢性炎症が起こった歯周病局所には多数のマクロファージが遊走している. マクロファージは, 歯周病原菌を貪食除去する一方で, サイトカインやプロテアーゼを産生して歯周組織を破壊するなど, 歯周病の進行に深く関与する. 興味深いことに, 細菌感染したマクロファージは, 菌由来の因子を含む細胞外小胞 (Extracellular vesicles; EVs) を放出し, 宿主細胞の免疫応答や近隣マクロファージの動態を制御するなど, 多彩な機能を有する.

そこで我々は, 歯周病変部から放出された EVs, 特に歯周病原菌に感染したマクロファージの EVs が, 歯周病に関連した全身疾患の発症に関与するかを検証した. その結果, マクロファージに歯周病原菌 *P. gingivalis* を感染させると, 非感染時には認められない特異的な蛋白質が EVs に含有されること, EVs が多臓器に集積しその状態を病的に変化させることを見出した.

本シンポジウムでは, 得られた結果を紹介し, 全身疾患発症における歯周病原菌とマクロファージの相互関係の重要性について議論したい.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

US5-4 Communication between periodontal bacteria and macrophages in systemic diseases

○Yoshida K¹, Okamura H²

¹Dept Oral Health Care Educ, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci; ²Inst Biomed Sci, Dept Oral Morpho Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm

Periodontal diseases are known to be pathologically associated with various types of systemic diseases, however, the mechanisms how which inflammation/infection in oral cavity regulates extraoral health remain unclear. In chronic periodontitis lesions, large population of inflammatory cells including macrophages are observed. The macrophages not only phagocyte periodontal bacteria in immune response, but also damage periodontal tissue by secreting pro-inflammatory cytokines and proteases, suggesting that macrophages play key roles in progression of periodontal diseases. Interestingly, macrophages infected with bacteria such as *M. tuberculosis* released extracellular vesicles (EVs) which regulate host immune by delivering host-derived factors.

We therefore investigated whether EVs produced in chronic periodontitis lesion may contribute to progression of systemic diseases. Here, we show that the macrophages infected with periodontal bacteria, *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), released EVs containing specific proteins derived from host cells. EVs released by *Pg*-infected macrophages could reach the multiple organs, and induced disorders there in mice. We propose a novel mechanism that EVs of macrophages in periodontal diseases may affect the development of systemic diseases.

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

US5-5 オルガノイドと細胞外小胞を癌研究に応用する

○江口 傑徳^{1,2}, 十川 千春¹, 岡元 邦彰¹

¹岡大 院医歯薬 歯科薬理, ²岡大 歯 先セ

「オルガノイド」とは、本来 *In vitro* で作製されたミニチュア臓器を指すが、我々は腫瘍オルガノイド (TUMOROID) という新領域を創っている¹。従来の創薬ではとりわけ二次元接着培養による薬剤スクリーニングが用いられ、現在の抗がん剤の臨床に至っているが、そのような既存薬も三次元 TUMOROID には効かないことを経験した²。

TUMOROID を応用したドラッグ・リポジショニング研究を行い、抗マalaria薬アルテスネイトおよびパーキンソン病治療薬ベンズトロピンにそれぞれ抗がん作用があることを発見した^{2,3}。ゲルフリー TUMOROID システムでは、培地を介して物質の添加および抽出・分析が容易であるため、我々は、細胞外小胞画分の抽出および添加実験を行い、がんの正体に迫っている^{1,4,5}。

1. Eguchi et al 2018 PLoS One; 2. Sogawa et al 2019 Tissue Eng; 3. Sogawa et al 2020 Cancers; 4. Ono et al 2020 J Extracell Vesicles; 5. Taha et al 2020 Cancer

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US5-5 Application of Organoids and Extracellular Vesicles to Cancer Research

○Eguchi T^{1,2}, Sogawa C¹, Okamoto K¹

¹Dept Dent Pharmacol; ²ARCOCS, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharma Sci

“Organoid” originally means a miniature organ produced *in vitro*, while we are creating a new area called tumor organoid (TUMOROID)¹. Although most drug screenings have been performed under two-dimensional culture systems reaching current clinical anticancer drugs, we have experienced that such an existing drug has no effect on the tumoroid created by a three-dimensional culture system².

We also performed tumoroid-based drug repositioning/repurposing studies by which we discovered that anti-malaria drug artesunate and anti-Parkinson drug bztropine have anti-cancer effects^{2,3}. As our gel-free tumoroid system easily enables materials added, extracted, and analyzed, extracellular vesicles were extracted from and added to tumoroids, by which we penetrate cancers^{1,4,5}.

1. Eguchi et al 2018 PLoS One; 2. Sogawa et al 2019 Tissue Eng; 3. Sogawa et al 2020 Cancers; 4. Ono et al 2020 J Extracell Vesicles; 5. Taha et al 2020 Cancer

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

US5-6 母体腸内細菌叢の有無が胎児骨格形成に与える影響

○福原 瑤子¹, 服部 高子², 池亀 美華¹, 久保田 聡², 岡村 裕彦¹

¹岡大 院医歯薬 口腔形態, ²岡大 院医歯薬 口腔生化

腸内細菌叢は免疫機構に影響を与え, その乱れは種々の疾患の要因となることが報告されている。加えて腸内細菌が骨代謝に与える影響が活発に研究されつつある一方で, 母体腸内細菌叢の有無が胎児成長に与える影響はいまだ不明な点が多い。

我々は母体腸内細菌が胎児の内軟骨性骨成長に与える影響に関して解析を進めており, 無菌マウスである germ free (GF) マウスと specific pathogen free (SPF) マウス 18.5 日齢胎児の比較研究を行った。その結果, GF マウス胎児, SPF マウス胎児の頭殿長および体重に大きな差異は見られなかったが, マイクロ CT 解析の結果, SPF マウスの方が GF マウスと比較して骨化度が低い傾向があった。さらに両群から採取した肋軟骨由来初代培養軟骨細胞の増殖能では, SPF マウスの方が GF マウスと比較して増殖能が顕著に低かった。培養軟骨細胞における遺伝子発現の比較: RNA-Seq の結果, aggrecan, 2 型コラーゲン mRNA の発現は SPF 軟骨細胞で低く, また, Interleukin (IL)-6, IL-17 receptor mRNA の発現は SPF で非常に高かった。IL-6, IL-17 は間葉系細胞から軟骨細胞への分化を負に制御することが知られている。

これらの結果は, 母体の細菌層の存在が胎生期の内軟骨性骨形成を負に制御している可能性を示している。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US5-6 The investigation of the impact of mother gut microbiome of the endochondral ossification of embryo.

○Uchida-Fukuhara Y¹, Hattori T², Ikegame M¹, Kubota S², Okamura H¹

¹Dept Oral Morphol; ²Dept Biochem Mol Dent Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

Several studies have reported effects of gut microbiome on bone metabolism. However, no report exists about the effects of gut microbiome on embryonic endochondral ossification.

We analyzed the endochondral ossification of embryonic day 18.5 GF/SPF mice. The micro-CT analysis showed lower bone volume fraction in the SPF tibia. Cultured chondrocytes from fetal SPF rib cages showed lower cell proliferation and lower gene expression of insulin-like growth factor-1. RNA-sequencing analysis showed induction of inflammation-associated genes such as interleukin (IL) 17 receptor and IL 6 as well as immune response genes in SPF chondrocytes. Gut microbiome affects immune responses in the host.

Here we show that mother gut microbiome in SPF mice affect fetal and postnatal embryonic endochondral ossification possibly through changing the expression of genes related to inflammation and immune response in fetal cartilage.

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

US6-1 骨芽細胞と象牙芽細胞の由来・分化・表現型の違い

○大島 勇人

新潟大 院医歯 硬組織形態

象牙質形成は上皮間葉相互作用により進行する。内エナメル上皮細胞から分泌された成長因子やシグナル分子が基底膜にトラップされることがきっかけになり、最後の細胞分裂を終えた基底膜近くの歯乳頭細胞が成長因子の受容体を発現するようになると、成長因子などを受け取って象牙芽細胞に分化する。一方、骨芽細胞系細胞の増殖・分化・機能発現は Runx2 によって調節されている。興味深いことに、象牙芽細胞分化は Runx2 の下方制御により完了し、象牙芽細胞系細胞に Runx2 を過剰発現させると骨芽細胞に形質転換する。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。外的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、外的侵襲後の歯髄治癒過程において、歯髄・象牙質界面にオステオポンチン (OPN) が沈着することが、象牙質形成のための必須の因子であり、OPN がない環境では、dentin matrix protein 1 の代償により象牙芽細胞様細胞分化は起こるが、I 型コラーゲンの合成阻害により第三象牙質が形成されないことが明らかになっている。

本シンポジウムでは、象牙芽細胞と骨芽細胞の異同を由来、分化、表現型の側面から捉えて、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。

US6-1 Differences between odontoblasts and osteoblasts from the viewpoint of origin, differentiation, and phenotype

○Ohshima H

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

Dentinogenesis proceeds via epithelial-mesenchymal interactions and both basal lamina and inner enamel epithelium are necessary for the odontoblast differentiation. In contrast, proliferation, differentiation and functions of osteoblast-lineage cells are regulated by Runx2. 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. The deposition of osteopontin at the calcification front is essential for the type I collagen secretion by newly differentiated odontoblast-like cells to form reparative dentin during pulpal healing following cavity preparation.

The current symposium focuses on the differences between odontoblasts and osteoblasts to be considered from the viewpoint of origin, differentiation, and phenotype.

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

US6-2 硬組織形成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, 日高 亨彦, 小沼 一雄, 山本 竜司, 斉藤 まり, 千葉-大熊 理紗子,
山越 康雄

鶴大 歯 生化学

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た。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細胞分化の方向性を検討した。

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有意に上昇した。

以上の結果から、MDZがPPU7細胞の象牙芽細胞分化を促進し、象牙質再生におけるドラッグ・リポジショニングに対して有用性があ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。

US6-2 Drug Repositioning Efficacy of Midazolam on Hard Tissue Forming Cells

○Karakida T, Hidaka Y, Onuma K, Yamamoto R, Saito MM, Chiba-Ohkuma R, Yamakoshi Y

Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Midazolam (MDZ) is a short-acting hypnotic-sedative drug with amnesic 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 author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

US6-3 Cre/loxP 遺伝子情報改変技術を用いた間葉系幹細胞の分化機構の解明

○溝口 利英

東歯大 口科研セ

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、マウスにおける Cre/loxP 遺伝子改変情報技術を用いたフェイトマッピング解析により、BM-MSC を同定することを試みた。その結果、レプチン受容体 (LepR) 陽性細胞が、成体の BM-MSC として機能することが明らかになった (Dev Cell 29:340, 2014)。LepR 陽性細胞は血管に近接した場所に局在し、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、LepR 陽性細胞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 34:1952, 2019)。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シフト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、現在我々が取り組んでいる、Cre/loxP 遺伝子情報改変技術による「細胞の枯渇実験系」を用いた、象牙芽細胞の分化機構の解析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。

US6-3 In vivo Analysis of Mesenchymal Stem Cell using Cre/loxP Gene Modification Technology

○Mizoguchi T

Oral Health Sci Ctr, Tokyo Dent Coll

Although one of the roles of bone marrow mesenchymal stem cells (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 BM-MSC by fate mapping analyses using Cre/loxP gene modification technology, and found that Leptin receptors (LepR)-positive cells possess the BM-MSC capacity in vivo (Dev Cell 29:340, 2014). LepR⁺ cells differentiate into osteoblasts and adipocytes with aging. Although there is no contribution of LepR⁺ cells on chondrocytes in developmental stage, the LepR⁺ cells-derived chondrocytes were observed in bone fractured callus.

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). 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 34:1952, 2019).

Based on our recent findings obtained by cell-depletion assay using Cre/loxP gene modification technology, I would like to also touch upon about the in vivo regulation of odontoblastogenesis in this lecture.

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

US6-4 骨血管連関からみた骨芽細胞系細胞の分化

○長谷川 智香¹, 趙 申¹, 吉野 弘菜², 阿部 未来¹

¹北大 院歯 硬組織発生物, ²北大 歯 6年

骨芽細胞は、間葉系幹細胞から分化するとともに、周囲の破骨細胞とのカップリングによって活性化される。近年、骨特異的血管（CD31 強陽性 / Endomucin 強陽性血管内皮細胞）が、骨芽細胞の活性化・骨形成促進に寄与する可能性が報告されている。演者らは、骨組織に豊富に存在する骨特異的血管が EphB4 陽性を示す一方で、ephrinB2 陽性骨芽細胞と細胞間接触を認めており、骨血管連関としての骨芽細胞系細胞と血管内皮細胞の間の様々な細胞間コミュニケーションを推察している。

副甲状腺ホルモン（PTH）は、前骨芽細胞の増加に伴う破骨細胞の活性化や数の増加や、両者のカップリングによる骨芽細胞分化・骨形成亢進を誘導すると考えられる。しかし一方で、演者らは、PTH が骨特異的血管数の増加や血管腔の拡大、血管周囲の細胞群の変化（ α SMA/c-kit 陽性細胞の出現）をもたらすことを見出し、PTH の骨芽細胞系細胞への直接作用だけでなく、血管周囲の細胞群に対してもダイナミックな変化をもたらしていると推察している。

本シンポジウムでは、これらの知見についてご紹介したい（なお、本研究の一部は、2019 年度歯科基礎医学会若手研究者助成の支援により行われた）。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US6-4 Osteoblastic differentiation from the viewpoint of bone/blood vessel interplay

○Hasegawa T¹, Zhao S¹, Yoshino H², Abe M¹

¹Develop Biol Hard Tissue, Fac Dent Med; ²Sch Dent, Hokkaido Univ

Osteoblasts differentiated from mesenchymal stem cells are coupled with osteoclasts, resulting in remodeling-based bone formation. Recently, CD31-positive/endomucin^{high}-positive bone-specific blood vessels have been reported to interact with osteoblastic cells to form new bones. We have reported that many EphB4-reactive bone-specific blood vessels made cell-to-cell contact with ephrinB2-positive osteoblasts, suggesting the interplay between blood vessels and osteoblasts.

The intermittent administration of parathyroid hormone (PTH) promotes preosteoblastic proliferation and osteoblastic bone formation, both of which are finely-tuned by cell coupling with osteoclasts. We have recently demonstrated that PTH administration significantly increased the numbers and luminal diameters of bone-specific blood vessels, as well as the numbers of α SMA positive/c-kit reactive cells surrounding blood vessels. It seems likely therefore that PTH administration would not only affect osteoblastic cells, but also dynamically change the population and profile of cells surrounding the bone-specific blood vessels. Taken together, osteoblastic differentiation may be influenced by the altered population of cells surrounding bone-specific blood vessels.

In this symposium, we will show our recent histochemical findings from the viewpoints of bone/blood vessel interplay (This study was partially supported by 2019th Japanese Association for Oral Biology Grant-in-Aid for Young Scientists).

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

US7-1 Analysis of Plaque Microbiota and Salivary Proteins Adhering to Dental Materials

○Mukai Y¹, Torii M², Urushibara Y², Kawai T¹, Takahashi Y¹, Maeda N¹, Ohkubo C², Ohshima T¹

¹Dept Oral microbiol; ²Dept Removable prosthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Biofilms form on surfaces of prostheses or restorations and can trigger aspiration pneumonia. However, it is not known whether the microbiota composition of denture plaque on various materials is identical to dental plaque (on teeth). Additionally, it is not known whether the pellicle-like proteins that mediates the initial attachment of bacteria to materials is composed of salivary proteins similar to those on teeth. The purpose of this study was to clarify the characteristics of these salivary proteins and the microbiota adhering to dental materials.

Eight subjects wore removable splints with five pieces of material (pure titanium, cobalt-chromium alloy, silver-palladium-copper-gold-alloy, denture-base-resin, hydroxyapatite) in the mouth for 24 hours. Bacteria adhering to each material were analyzed by 16S rRNA sequencing. Further, each material sample was immersed in pooled saliva, and the adhering proteins were collected. Low molecular weight proteins were analyzed by MALDI-TOF/MS, and the high molecular weight proteins were identified as adhering salivary proteins by PMF.

Regarding α -diversity and β -diversity of saliva and adherent flora, the diversity between materials was similar, only saliva was different. There are bacteria related or not related to adherence, the composition does not differ much depending on the material. The bacterial species that easily adhere to materials were *Streptococcus sp. oral taxon 058*, *Neisseria mucosa*, *Gemella haemolysans* and *Rothia dentocariosa*. Peaks or spots of adhering salivary proteins showed similar patterns among materials. These proteins function as anchoring receptors for *Streptococcus* such as alpha-amylase and proline-rich protein.

In conclusion, there was no significant difference in the microbiota and protein adherence between hydroxyapatite and dental materials. Therefore, it is considered that a similar microbiota was formed on the similar pellicle-like proteins. This basic study should clarify the adhesion mode of plaque microbiota and find a method for suppressing plaque adherence to teeth and dental materials in future.

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

US7-2 Profiling of Microbiota of Baby-Drinks after Drinking with Artificial Nipples

○Wakui A², Sano H^{1,2}, Kawachi M², Masuda N², Maruyama S², Washio J³, Abiko Y³, Mayanagi G³, Yamaki K³, Takahashi N³, Okada Y¹, Sato T²

¹Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent Niigata; ²Div Clin Chem, Dept Med Technol, Niigata Univ Grad Sch Health Sci; ³Div Oral Ecol & Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

It is suspected that oral bacteria are transferred to the baby-drinks through the artificial nipples and multiply in the bottles after feeding. In this study, to understand the influence of bacteria on baby-drinks after feeding, the transfer of oral bacteria through artificial nipples and their survival in baby-drinks were examined immediately after drinking and when stored 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 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 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 author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

US7-3 Development of Oral Microbiota during the First Two Years of Life

○Kageyama S

Sect Prevent Dent Public Health, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Bacterial colonization of the oral cavity begins with exposure to a wide variety of microbes after birth, and the oral microbiota develops as newborns grow. However, how or when these bacteria construct a complex and stable ecosystem remains unclear.

We examined the temporal changes in bacterial diversity and composition in tongue microbiota during infancy. In a prospective cohort study, we longitudinally collected a total of 464 tongue swab samples from 8 infants (age < 6 months at baseline) for approximately 2 years. We also collected samples from 73 adults (aged 20 to 29 years) cross-sectionally as a control group. Bacterial diversities and compositions were determined by 16S ribosomal RNA gene sequencing. The tongue bacterial diversity, measured as the number of observed operational taxonomic units (OTUs), rapidly increased and nearly reached the same level as that in adults by around 80 weeks. The overall tongue bacterial composition in 80 - 120 weeks was more similar to that in adults than that in 10 - 29 weeks, according to analysis of similarities based on the weighted UniFrac distance. Dominant OTUs in the 10 - 29 weeks corresponding to *Streptococcus peroris* and *Streptococcus lactarius* exponentially decreased around 30 - 49 weeks, whereas several OTUs corresponding to *Granulicatella adiacens*, *Actinomyces odontolyticus*, and *Fusobacterium periodonticum* reciprocally increased during the same period.

These results suggest that a drastic compositional shift of tongue microbiota occurs before the age of 1 year, and then bacterial diversity and overall bacterial composition reach levels comparable to those in adults by the age of 2 years.

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

US7-4 The Antimicrobial Properties of Green Tea-Derived Epigallocatechin Gallate on *Streptococcus mutans*

○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, Chengdu, China; ³Dept Cariol Endodont, Fujian Med Univ Sch Stomatol, Fuzhou, China

Introduction: Green tea is one of the most popular beverages in the world. Clinical trials have shown that drinking tea (without adding sugar) is associated with lower caries levels in humans. The antimicrobial property of green tea-derived epigallocatechin gallate (EGCG) has been considered in preventing dental caries. Previous studies have reported that EGCG could inhibit the growth of *Streptococcus mutans* along with suppression of various enzymatic activities such as glucosyltransferases and lactate dehydrogenase of *S. mutans*. However, the comprehensive caries preventive mechanism of EGCG has not been elucidated. This research aims to characterize the effect of EGCG on bacterial viability, acid production and aggregation, closely relevant to bacterial cariogenic potential.

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 and pH-drop assay were used to evaluate bacterial acid production from glucose under anaerobic condition with or without EGCG. The activity of phosphoenolpyruvate-dependent phosphotransferase system (PEP-PTS) that is essential for bacterial sugar uptake and the buffering ability of EGCG were also analyzed. The aggregation of planktonic bacteria caused by EGCG was evaluated by optical density at 660 nm. To test the influence of saliva on these properties, stimulated saliva was collected from five volunteers and applied to the above experiments.

Results and Discussion: 1 mg/ml EGCG showed no bactericidal activity on *S. mutans* after 5 hours co-incubation, while decreased acid production by *S. mutans* both at pH 7.0 and pH 5.5. EGCG reduced the activity of PEP-PTS and had buffering ability to acid, thus slowed down glucose-induced pH-fall in *S. mutans* suspension. EGCG caused bacterial cell aggregation and reduced the optical density of cell suspension, suggesting its potential to inhibit bacterial adhesion to the tooth surface and the subsequent biofilm formation. Moreover, stimulated saliva did not influence these properties of EGCG on the acid production and the aggregation of *S. mutans*. These results indicate that green tea-derived EGCG has the potential to prevent dental caries.

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

US7-5 Effect of Nitrate (NO_3^-) and Nitrite (NO_2^-) on the Growth and NO_2^- Producing Activity of Oral *Veillonella* Species

○Wicaksono DP^{1,2}, Washio J¹, Takahashi N¹

¹Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ²Dept Pediatr Dent, Fac Dent Medicine, Univ Airlangga, Surabaya, Indonesia

Introduction: *Veillonella* species are known as one of the major anaerobic and has been assumed as beneficial oral microorganisms due to its lactate utilization. Furthermore, *Veillonella* can produce NO_2^- from NO_3^- , that is abundant in the oral cavity because it is easily found in green leafy vegetables, and a part of NO_3^- ingested is known to be secreted as saliva component. NO_2^- is known to inhibit the growth and metabolism of oral pathogenic bacteria such as *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis*, and the acid producing activity of dental plaque. Furthermore, NO_2^- is known to normalize the blood pressure. Our previous report clarified that *Veillonella*'s NO_2^- production was enhanced by environmental lactate and acidic pH. However, the effect of NO_3^- and NO_2^- on *Veillonella* species is still unknown. Hence, the aim of this study was to elucidate the effects of NO_3^- and NO_2^- on the growth and the NO_2^- producing activity of *Veillonella* species.

Materials and Methods: *Veillonella atypica* (*Va*) ATCC 17744, *Veillonella parvula* (*Vp*) 10740, and *Streptococcus mutans* (*Sm*) NCTC 10449 were cultured anaerobically in the medium with 0 – 100 mM potassium nitrate (KNO_3) or potassium nitrite (KNO_2), and their growth were monitored. Next, *Veillonella* species were grown with or without 1 mM KNO_3 or KNO_2 , harvested and washed. *Veillonella* cells were incubated aerobically or anaerobically for 30 min at 37°C with 1 mM KNO_3 and 0-50 mM sodium lactate in 40 mM potassium phosphate buffer (pH 5 or 7) for the analysis of NO_2^- producing activity, while the cells were incubated for 15 min under the same conditions except for 10 mM sodium lactate for the analysis of acidic end products from lactate. The NO_2^- production was measured by Griess reagent kit, and acidic end products were analyzed by High Performance Liquid Chromatography.

Results and Discussion: NO_3^- did not affect to the growth of all bacteria, except at high concentration (100 mM) on *Sm* ($p < 0.05$). On the other hand, NO_2^- inhibited *Sm* at low dose (0.5 mM) of NO_2^- ($p < 0.01$), while it needed higher dose (20 mM) to inhibit *Veillonella* strains ($p < 0.01$). The presence of NO_3^- or NO_2^- in the growth medium increased the NO_2^- producing activity of *Veillonella* ($p < 0.05$). The NO_2^- producing activity was higher under anaerobic conditions than aerobic conditions. End products from lactate were mainly acetate and propionate. In addition, stoichiometric calculation based on the end product analysis suggests that the reduction of NO_3^- to NO_2^- is coupled with the oxidation of lactate. In conclusion, unlike other oral bacteria such as *Sm*, *Veillonella* species are NO_2^- tolerant and their NO_2^- producing activity is NO_3^- / NO_2^- inducible. The reducing power of NO_3^- to NO_2^- can be derived from lactate metabolism.

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

US7-6 A Study on Fimbriae of Oral *Prevotella* spp.

○Nagano K

Div Microbiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

Prevotella is a genus of anaerobic, saccharolytic, gram-negative, small rods that includes more than 40 different species with a wide genomic diversity. Many *Prevotella* spp. can be isolated from the oral cavity. Transmission electron microscopic analysis detected fimbria-like filamentous structures on the cell surface of *Prevotella* spp. isolated from the oral cavity. Bacterial fimbriae generally play an important role in biofilm formation and colonization of host tissues. However, the proteins, as well as the genes encoding them, have not been identified even in *P. intermedia*, which is a relatively well-studied species of this genus. In this study, we attempted to identify the fimbrial proteins and genes of *P. nigrescens*, which is frequently detected in the oral cavity of both healthy and diseased subjects.

P. nigrescens JCM 12250 (ATCC 33563), expressing abundant fimbriae, was cultivated in modified GAM broth (Nissui), collected by centrifugation, and suspended in Tris buffer (pH 8.0) supplemented with a cocktail of protease inhibitors. The cells were ultrasonically disrupted, and debris was removed using centrifugation. The bacterial lysate was first fractionated with 40% saturated ammonium sulfate, and the precipitate was dialyzed against Tris buffer (pH 8.0). Then, it was fractionated using DEAE-Sepharose anion exchange chromatography with a gradient of sodium chloride. All fractions showing substantial absorption at a wavelength of 280 nm were examined by transmission electron microscopy. Fractions in which a fimbria-like structure was observed were subjected to SDS-PAGE and CBB-staining analysis, and an almost pure protein band was detected. Next, the amino acid sequence was analyzed using a protein sequencer, and the amino acid sequence of eight residues from the N-terminus (8-aa sequence) was determined. A BLAST search of the 8-aa sequence against the protein database of *P. nigrescens* ATCC 33563 revealed a corresponding sequence within protein X (unpublished data). The residue adjacent to the N-terminal amino acid was arginine. This suggests that the fimbrial protein of *P. nigrescens* is processed by a trypsin-like enzyme because the sequence obtained in this analysis is presumed to be the N-terminal sequence of a mature fimbrial protein. This type of processing is the same as that found to process the fimbrial protein in *Porphyromonas gingivalis*. Next, a recombinant protein was prepared from *Escherichia coli*, based on the gene information, which successfully elicited an antiserum in a rabbit. It was confirmed that the antiserum reacted with native fimbriae of *P. nigrescens*. To confirm that protein X is a major component of the fimbriae, we examined whether fimbria-like structures on the bacterial surface were labeled with the antiserum using immunoelectron microscopy. In addition, we are trying to construct a mutant strain with the corresponding gene deleted to confirm the composition and function of the fimbriae.

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

US8-1 毒物投与モデル動物における嗅覚 / 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

パーキンソン病 (PD) の前駆症状として嗅覚や味覚障害が高頻度で発症することが報告されている。しかしながら、それらの発症原因については不明な点が多く、病態解明や治療法の開発には嗅覚や味覚障害を呈する PD モデル動物を用いた研究が必要である。近年、ミトコンドリア呼吸鎖複合体 I を特異的に阻害する農業殺虫剤ロテノン投与した動物が、PD 様の非運動・運動障害を示すことが報告されている。

我々はこれまで、ロテノン鼻腔内投与マウスが、嗅覚や味覚障害を呈する PD モデル動物として有用かどうか検討してきた。その結果、ロテノン 1 週間鼻腔内投与マウスでは、嗅球の糸球体周囲に存在する tyrosine hydroxylase (TH) 陽性細胞数が減少し、酪酸の匂いに対する忌避行動が低下した。また、味覚伝導路である孤束核の TH 陽性細胞数や島皮質苦味応答領域における TH 陽性線維占有率が減少し、キニーネに対する苦味感受性が低下した。一方、黒質や腹側被蓋野における TH 陽性細胞数には変化を認めず、ロータロッドテストを用いた運動機能評価においても変化を認めなかった。しかしながら、ロテノンを 4 週間にわたり鼻腔内投与したマウスでは、黒質や腹側被蓋野の TH 陽性細胞数が減少し、その運動機能が低下した。本実験条件のモデルマウスは、神経変性が進行する過程で嗅覚や味覚障害を呈したことから、PD における嗅覚 / 味覚障害発症機構の解明に有用である可能性が示唆された。

本シンポジウムでは、電気生理学的手法を用いた新たな研究結果を含めて、これまでの研究結果を概説したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US8-1 The underlying mechanisms of smell and taste impairments in toxin-induced animal model.

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

Dept Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

The early stage of Parkinson's disease (PD) is associated with aberrations of olfactory and taste functions that precede the onset of motor symptoms. Insecticide rotenone is often used to induce PD-like motor or non-motor symptoms in animals. However, there is little evidence on functional and histological changes in taste system of animals exposed to rotenone.

Here, we addressed the changes of olfactory, taste, and motor functions due to the intranasal rotenone treatment. The rotenone-injected mice had attenuated both olfactory and taste functions without motor dysfunction. Tyrosine hydroxylase immunoreactive neurons in olfactory bulb, nucleus of solitary tract, and dysgranular insular cortex of the primary bitter taste area, were simultaneously disrupted by the intranasal rotenone treatment for 1 week, but were retained in substantia nigra and ventral tegmental areas.

In this symposium, we will overview smell and taste impairments in our PD model mice and illustrate the presumed mechanisms underlying these impairments.

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

US8-2 歯と体内時計のバイオロジー～象牙質形成のウルトラディアンリズム～

○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

¹京都府医大 院医 統合生理, ²京都府医大 院医 歯口科

象牙質の成長線形成は約24時間周期の体内時計(概日時計)に制御されるのが定説となっているが、これは生涯にわたり発育を続ける齧歯類の前歯での結果を典拠としたものである。我々は、ヒトの歯の発育理論と比較するためには、歯冠形成後に伸長が停止する“マウス臼歯”を用いたモデルが適当だと考えた。そこで、生物時計とマウス臼歯の象牙質形成との関連性について、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応用することで、時間生物学の観点から検討を行った。

12時間サイクルの明暗条件下では、野生型マウスの象牙質成長線は約8時間周期で形成されていた。この形成周期は、光による環境同調を受けない恒暗条件で飼育した野生型および時計遺伝子 *Bmall* 欠損マウスにおいても維持されていた。これらより、マウス臼歯の象牙質形成が24時間よりも短い周期の自由継続リズム(ウルトラディアンリズム)であること、さらに *Bmall* は概日リズム形成に必須の転写因子であることから、時計遺伝子による概日時計とは別の分子メカニズムで駆動されていることが明らかになった。

また、マウス臼歯の歯冠象牙質形成が生後5週齢までに完了することも判明した。細胞レベルでの概日時計は胎生後期に確立されるものの、全身で調和の取れた概日リズムが出現するまでには生後数週間を要することが知られている。したがって、マウス臼歯の象牙質は、組織レベルでの概日リズムが開始する前に形成されたため、約24時間とは異なる周期性を示したと推測される。本研究で得られた知見は歯の発育に関する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る。今後は、動物種による違い・個体発生との関連性などを吟味することで、成長線の生物学的な意義やその性質をより深く理解できるだろう。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US8-2 A New Insight of Tooth Growth ~ 8-hour Ultradian Increments in Mouse Molar Dentin ~

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

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

Rhythmic incremental growth lines occur in dental hard tissues of vertebrates, and dentinogenesis in rodent incisors is suggested to be controlled by the 24-hr circadian clock. Rodent incisors continue to grow throughout the life; however, similar to human teeth, rodent molars stop growing after crown formation. This similarity suggests that the mouse molar is an excellent model to understand the molecular mechanisms underlying growth of human teeth. However, not much is known about the rhythmic dentinogenesis in mouse molars.

Here, we investigated the incremental growth lines in mouse molar dentin using tetracycline as the growth marker. The incremental growth lines were observed to be generated at approximately 8-hr intervals in wild-type mice housed under 12:12 hr light-dark conditions. Moreover, the 8-hr rhythmic increments persisted in the wild-type and *Bmall*^{-/-} mice housed in constant darkness, where *Bmall*^{-/-} mice become behaviorally arrhythmic.

These results revealed that the dentinogenesis in mouse molars underlie the ultradian rhythms with around 8-hr periodicity. Further, the circadian clock does not seem to be involved in this process, providing new insight into the mechanisms involved in the tooth growth.

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

US8-3 咬合不調和による慢性的な交感神経系の活性化は心房細動に対する脆弱性を高める

○吹田 憲治¹, 八木澤 由佳², 早川 佳男³, 伊藤 愛子², 松尾 一郎⁴, 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

慢性的ストレスによる交感神経系の持続的な活性化は心臓組織のリモデリングを惹起し、心不全や不整脈などの心疾患の誘因となる。歯の喪失や不正な歯列に伴う咬合不調和は慢性的なストレスを誘発すると考えられているが、心疾患との関連については依然不明である。本研究では、臨床で最も頻繁にみられる不整脈である心房細動 (Atrial fibrillation: AF) に対する咬合不調和の影響を明らかにすることを目的とした。

C57BL/6 マウスの下顎切歯に歯科用レジンを装着して 0.7 mm 開口させる開口負荷処理 (bite-opening: BO) により咬合不調和を誘発し、本処理を 2 週間持続して行った。AF に対する脆弱性を評価するために、経食道バーストペーシングによってマウスに誘発した AF の持続時間を測定した結果、BO 処理群の AF 持続時間はコントロール群と比較して有意に延長していた。また、組織染色では心房筋細胞のアポトーシス、心房組織の線維化、および心房組織の酸化 DNA 損傷が BO 処理で有意に増加していた。心房から抽出したタンパク質を用いたウェスタン解析では、AF への脆弱性が高まっている指標の一つとなる、Calcium-calmodulin dependent protein kinase II を介したリアノジン受容体 (serine-2814) のリン酸化亢進が BO 群において認められた。一方、BO によって誘発された上記の組織および細胞での変化は β アドレナリン受容体遮断薬プロプラノロールにより抑制された。

以上の結果から、咬合不調和による交感神経系の慢性的な活性化は心房組織のリモデリングを引き起こし、AF に対する脆弱性を高めることが明らかとなった。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US8-3 Chronic sympathetic activation induced by occlusal disharmony increased vulnerability to atrial fibrillation in mice

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

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

Various types of chronic stresses are known to induce the cardiac remodeling via persistent activation of sympathetic nervous system, resulting in the increased incidence of cardiovascular diseases such as heart failure and arrhythmias. Occlusal disharmony due to loss of teeth or incorrect positioning of teeth is considered to cause a chronic stress. However, the relationship between occlusal disharmony and cardiovascular diseases remains poorly understood. The aim of this study is to clarify the effect of occlusal disharmony on atrial fibrillation (AF), one of the most prevalent cardiac arrhythmias.

To cause occlusal disharmony, bite-opening (BO) with increased vertical height of occlusion by 0.7 mm was performed using C57BL/6 mice for 2 weeks. AF vulnerability, evaluated in terms of the duration of AF induced by transesophageal burst pacing, was significantly elongated in BO-treated mice than control. Atrial remodeling, including myocyte apoptosis, fibrosis and oxidative DNA damage, was significantly enhanced by BO. The BO-induced increase of AF vulnerability was associated with increased calcium-calmodulin dependent protein kinase II-mediated phosphorylation of ryanodine receptor 2 (serine-2814). However, co-treatment with propranolol, a β -adrenergic receptor blocker, ameliorated these BO-dependent changes.

Our data suggests that occlusal disharmony induced atrial remodeling and increased vulnerability to AF by chronic sympathetic activation.

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

US9-1 技術者として生きた半世紀

○山田 好秋

東歯大 口科研セ

教授とはなんたるかを語る自信は無い。少し毛色が変わった研究歴ではあるが、常に自作の研究装置で研究してきた私の技術者としての経験をお話する。歯学部に入學するとすぐに工学部に入りし、電子回路・プログラミングを学んだ。そして、工学部から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。ウサギの下顎運動と筋活動を自由行動下に記録する独自の装置を開発し、咀嚼の研究で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。長崎時代から咀嚼に加え嚥下も研究していた。新潟に戻り、ヒトの咀嚼運動への脳機能低下の影響を知りたくて脳外科病院の入院患者さんと面会した。咀嚼にはほとんど障害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始めた。その後、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・口腔内圧を同時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。多分野との連携を広げることで歯科基礎医学会の重要性が増すことを確信している。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US9-1 Half a century as an engineer

○Yamada Y

Oral Health Sci Ctr, Tokyo Dent Coll

I don't have the confidence to talk about ideal being of professor. I have a slightly unique research background and have accomplished research with my own research equipment. Thus I will talk about my experience as an engineer. Soon after entering the dental faculty, I got contact with engineering faculty and learned how to design electronic circuits and program. I helped to recruit human resources from engineering faculty to dental faculty. They are now active professors of engineering faculty. I have developed a system to record jaw movement and muscle activities for a long period from freely moving rabbits. I have succeeded to get competitive funds by the study and to educate graduate students who have backgrounds of dentistry, nursing, therapist etc. Since the Nagasaki era, I have been studying swallowing in addition to mastication. In Niigata, visiting at a Neurology Hospital affected me to change the research way from mastication to swallow.

After the request of clinicians of dysphasia, I tried to transfer the knowledge of oral physiology to diagnosis/treatment of dysphasia 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. The fact that oral physiology contributes greatly to society through swallowing research can be seen from the fact that a major food manufacturer has offered joint research. Currently, I am working with a company to develop devices that evaluate oral functions from EMG, lip force, and intraoral pressure, and has obtained several patents. I am convinced that the importance of the JAOB will increase by expanding cooperation with various fields

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

US9-2 歯学研究の多様性

○平田 雅人

福歯大 口腔歯 口腔医研セ

基礎歯学研究とは何でしょうか？歯や唾液腺、舌、口腔粘膜など口腔に関連した器官・組織・細胞の成り立ちや仕組みを研究することだけでしょくか。骨代謝に関する研究は、歯と同じく硬組織であることや歯科疾患（例えば歯周病など）に深く関わることから、以前より歯学研究として広く受け入れられてきました。そのお陰で、歯学を中心とした我が国の骨代謝研究は世界的に先駆的かつ重要な情報を発信してきました。しかし、唾液腺や口腔の感覚などは自律神経を含む中枢・末梢神経系の関わりなしには語れません。運動器系、内分泌系、消化器系、他…これらの全てが口腔の正しい働きには必須です。どこでどの様に繋がっているかわかりません。ですから今日、口腔の健康は全身の健康に繋がる（その逆も）ことが科学的にも実証されてきました。したがって、歯学部にいる者が行っている研究は、対象や内容は何であれ、全て歯学研究であると言っても良いでしょう。

Serendipityという言葉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です。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。歯学で十分と思っいてはダメで、広い生命科学研究の世界を知ることです。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US9-2 Diversity of oral medicine research

○Hirata M

Oral Med Res Ctr, Fukuoka Dent Coll

What is dental research (oral medicine research)? It must be focused to tooth, salivary glands, tongue or others? No!!, proper function of these organs, tissues or cells requires the aid by nervous system, endocrine system, locomotor system, alimentary system and others. So, a wide range of biological research must be regarded as dental research (oral medicine research).

On the occasion of dental research (oral medicine research), what of most importance is keeping broad outlook regarding life (health) science, which brings you serendipity.

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

US9-3 自分を活かす研究力：個人と組織の狭間

○山口 朗

東歯大 口科研セ

「独創的」という言葉は研究を行う上で極めて重要なキーワードの一つですが、その明確な定義はありませんし、研究者によってその捉え方も違います。私は学生時代から将来は他の人がやっていないことをやってみたいと思っており、それが「独創的」なことと考えていました。しかし、大学院では病理学・口腔病理学を専攻したので、「他の人がやっていないこと」を実践しないで、診断業務を確実に遂行する重要性を痛感しました。この点は臨床系では当然のことですが、基礎系では失敗を恐れずに「他の人がやっていないこと」を実践することが多々あるので、基礎系と臨床系の研究では「独創的」な研究には幅があります。

30代中頃に利根川進先生が言っていた2つの言葉に出会いました。「独創的な研究はものまねから始まる」と「何をやるかより、何をやらないかが大切」です。その後、研究テーマは留学中に行っていた「間葉系幹細胞から骨芽細胞への分化制御機構」を主軸として、他人のものまねから始め、何をやらないかということも常に考えてきました。しかし、現実では多くの情報があるので思いつきで研究を始めてしまうことも多々あり、その度に反省し、若い研究者にも迷惑をかけてしまいました。

このようなことを繰り返す間、「独創的研究」をめざす時に個人と組織の狭間で多くの経験をしてきました。その狭間には風通しの良い時と悪い時があるので、悪い時にはグループリーダーにそれを改善する勇気と熱意が要求されます。独創的な研究を行った（行っている）方々を見て、切磋琢磨できる良き仲間（チーム）を持つことと、本庶佑先生も述べている「独創的研究への近道：オンリーワンをめざせ」ということが重要なポイントと感じています。

本シンポジウムでは「独創的な研究」を行った多くの方々の経験も含めて、「自分を活かす研究力」を「個人」と「組織」の狭間でどのように培うのか皆さんと考えたい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US9-3 How to activate own research ability between individuals and organizations

○Yamaguchi A

Oral Health Sci Ctr, Tokyo Dent Coll

“Originality” is one of the most important key words in research, but its definition and interpretation diverse among scientists. I intended to do “original work” in future when I was a university student. At that time, I thought “original work” is what other people have not been done. During my graduate school days, however, I realized such idea led a dangerous action in terms of the pathological diagnosis, because the diagnostic practice should be always performed accurately like clinical practice. These indicate that some differences in risks of “original work” between basic and clinical researches, because activities doing other people have not been done is often permissive in basic research, but it always unsuitable in clinical practice.

In my middle thirties, I found two impressive phrases described by Professor Susumu Tonegawa, Nobel Prize Winner, those were “Original research comes from repetition” and “Making decision what not to do is more important than what to do”. After knowing these phrases, I intended my research for the regulatory mechanism of osteoblast differentiation from mesenchymal stem cells. However, I did many experiments deluded by the trend of scientific topics without deep-thinking, and this caused trouble to young scientists working with me. Based on my experiences, I learned a lot of gaps between individuals and scientific organizations including the research group, university, and government.

In such cases, the group leader should be brave and enthusiastic to bridge such gaps. Brilliant scientists keeping “Originality” teaches us two important issues to success “Original research”; one is to create and keep well-communicated research group, and another is “the short way to reach original research should be only one rather than number one” as described by Professor Tasuku Honjo.

In the present symposium, I would like to discuss how to develop original researches in the field of Dental and Oral Science by bridging individuals and organization.

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

US10-1 蛍光イメージングによる Ca^{2+} シグナル解析とその応用 —細胞レベルから個体レベル—

○谷村 明彦, 根津 顕弘

北医療大 歯 薬理

Ca^{2+} は様々な生体機能の調節に関与する重要な細胞内メッセンジャーであり, 主に小胞体などの細胞内ストアからの Ca^{2+} 放出と細胞外からの Ca^{2+} 流入によって調節される. 蛍光プローブを用いたイメージング解析によって, Ca^{2+} ウェーブや Ca^{2+} オシレーションなどの時空間的に制御された Ca^{2+} シグナルが明らかになり, それらの発生機構や生理的役割に関する研究が続けられている. また蛍光タンパク質を使った Genetically Encoded Ca^{2+} indicator (GECI) によって, 長時間解析や組織および個体レベルの解析が可能になり, Ca^{2+} シグナルと機能の直接的な解析が可能になりつつある.

本発表では, イメージングによる Ca^{2+} シグナルの研究法と, その実用例として非興奮性細胞における最近の研究を紹介する. Ca^{2+} イメージングに使用される Ca^{2+} プローブは, fura-2 などの有機蛍光プローブと GECIs に大別される. 有機蛍光プローブは, 培養細胞の培地や組織から調整した細胞浮遊液に加えるだけで簡単に細胞内に導入できる反面, 時間経過に伴って, 細胞外への漏出や細胞内小器官への蓄積が起こる欠点がある. 一方, GECIs はプラスミドの調整や遺伝子導入などの技術を必要とするが, 漏出や蓄積が起こらないため長時間解析に使用できる. またアデノウイルスベクターやレンチウイルスベクターを用いることで, 生きた動物を使った *in vivo* イメージング解析や GECI 安定発現細胞を使った長時間イメージング解析が可能になる. これらの手法を使った研究の実用例として, ラット顎下腺の *in vivo* Ca^{2+} 応答と唾液分泌のリアルタイム解析, 歯原性上皮細胞株 (SF2 cell) と歯髄幹細胞 (DPSC) の自発的 Ca^{2+} 応答と共培養による変調, グリオーマ細胞株 (C6 cell) の局所的 Ca^{2+} 応答などを紹介し, それぞれの研究手法の利点やノウハウを説明する. さらに, 現在, 注目されている発光タンパク質を用いた Ca^{2+} イメージングについても議論する.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

US10-1 Fluorescence imaging of Ca^{2+} signaling for live cells and live animals

○Tanimura A, Nezu A

Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Intracellular Ca^{2+} plays various roles for controlling many cellular functions in almost all cell types. Chemically synthesized fluorescent Ca^{2+} indicators provide significant contribution on the development of the field of Ca^{2+} signaling. Genetically Encoded Ca^{2+} indicator (GECI) extends the application of Ca^{2+} imaging for analyzing long-term events, tissue and individual level of biological events. Unlike chemically synthesized Ca^{2+} indicators, GECIs do not leak out from cells or accumulate intracellular compartments, ideal for the long time Ca^{2+} imaging. In addition to these advantages, the highly efficient gene transfer using virus vector enables the *in vivo* Ca^{2+} imaging, and allows for the direct analyses of the physiological roles of Ca^{2+} response.

In this presentation, we will demonstrate examples of various types of Ca^{2+} imaging in our laboratory, the real-time analysis of *in vivo* Ca^{2+} response and salivary secretion in rat submandibular gland, spontaneous Ca^{2+} responses in GECI-expressing stable cell lines, dental epithelial cell line (SF2 cell) and dental pulp stem cell (DPSC), and localized Ca^{2+} responses in a glioma cell line (C6 cell), and will focus on the advantages and tips for these research methods. We will also discuss the Ca^{2+} imaging using luminescent Ca^{2+} indicators.

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

US10-2 味覚受容体再構築系における Ca^{2+} イメージングを用いた受容体機能解析

○實松 敬介^{1,2}, 重村 憲徳^{1,2}

¹九大 院歯 口腔機能, ²九大 五感応用デバイス

味細胞は、外界の味物質を味覚受容体で捉え、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇を伴って活性化し、その情報を味神経に伝達する。本研究では、培養細胞に味覚 G タンパク質共役型受容体 (GPCR) と G α サブユニットを導入することで、味細胞環境を再構築し、 Ca^{2+} イメージングを用いた味覚受容体機能解析を行った。以前行った酸性条件下で甘味を誘導する味覚修飾物質ミラクリンの機能解析により、甘味受容体 TAS1R2+TAS1R3 は、酸性条件下でリガンドに対する感受性を変化させる可能性が示唆された。そこで甘味物質に対する pH の影響を調べたところ、人工甘味料サッカリンの濃度応答が低 pH で低下することが明らかになった。この pH 依存的なサッカリン濃度応答変化は、種差があり、ヒトには有効でマウスには無効であった。この種差を利用して、甘味受容体のどのドメインがこの効果に重要であるかを調べたところ、TAS1R3 の膜貫通ドメインが関与していることが明らかになった。さらに同ドメインに点変異を加えたところ、サッカリン感受性の pH 依存性の減少を認めた。分子動力学シミュレーション解析により、サッカリンはヒト TAS1R3 の膜貫通ドメインに低 pH でより強く結合することで、サッカリン本来のアゴニストの作用を減弱させる可能性が考えられた。

これらの結果から、TAS1R3 の膜貫通ドメインには pH 感受性ネガティブアロステリックモジュレーターサイトが存在し、甘味受容体は環境 pH によって感受性の制御を受ける可能性が示唆された。本知見は、他の GPCR の機能制御にも重要な知見を与えるかもしれない。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US10-2 Analysis of taste receptor function by Ca^{2+} imaging in heterologously expressing system

○Sanematsu K^{1,2}, Shigemura N^{1,2}

¹Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²R&D Ctr Five-sense, Kyushu Univ

The taste receptor cells are activated by taste substances through the Ca^{2+} signal. In this study, we introduced the taste G protein-coupled receptor (GPCR) and G α subunit into cultured cells and analyzed the function of taste receptors by Ca^{2+} imaging. A glycoprotein, miraculin, is known to induce sweet taste by acidification. Our previous study suggested that the protonation of the sweet receptor TAS1R2+TAS1R3 is also required for the sweet-inducing effect of miraculin, praising a possibility that pH affects the sweet receptor sensitivity. Therefore, we examined the sweet taste receptor function in low pH conditions. We found that responses to saccharin were reduced in low pH conditions in humans but not in mice. Using this species-specific sensitivity, we determined that the suppressing effect of low pH on saccharin responses was mediated by the transmembrane domain (TMD) of human TAS1R3. Point mutation analysis revealed the critical residues for this effect. Molecular dynamics simulation indicated that saccharin strongly binds to the presumed pH-sensitive negative allosteric moderator site in the TMD of human TAS1R3 by acidification.

Our results suggest that the sweet taste receptor sensitivity may be regulated by the environmental pH and provide new insights into the functional characterization of other GPCRs.

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

US10-3 電位依存性カルシウムチャンネルサブタイプによる島皮質抑制性神経回路の短期可塑性調節機構

○山本 清文, 小林 真之

日大 歯 薬理

中枢神経系のシナプスにおける神経伝達物質の放出は、シナプス前終末に発現する電位依存性カルシウムチャンネル (VDCC) を介した細胞外 Ca^{2+} の流入によって生じる。選択的 VDCC 遮断薬を用いた過去の研究において、小脳、脊髄ならびに海馬における伝達物質放出が主に P/Q 型および N 型によって生じることが明らかにされている。しかし、これら VDCC のサブタイプの違いがシナプス前終末における神経伝達物質の放出様式におよぼす影響は不明な点が多い。

そこで我々は、ラット島皮質の急性スライス標本を作製し、複数のニューロンから同時にホールセル記録を行うことで、シナプス前終末に存在する VDCC のサブタイプによって GABA の放出がどのように調節されているか明らかにした。抑制性ニューロンに 2 連の脱分極性パルス (刺激間隔 50 ms) を与えて活動電流を発生させ、シナプス後ニューロンから GABA 作動性単一シナプス後電流 (uIPSCs) を記録して N 型ならびに P/Q 型選択的 VDCC 遮断薬の効果を調べた。さらに uIPSC の振幅比 (paired-pulse ratio; PPR) を算出し、シナプス前終末における GABA の放出確率を評価した。

その結果、共通のシナプス前ニューロンから 2 つの異なるシナプス後ニューロンに投射する抑制性シナプスにおいて、PPR は必ずしも近似しないことが明らかになった。興味深いことに、PPR と P/Q 型 VDCC の遮断薬 ω -agatoxin IVA の感受性には正の相関性が認められた。したがって、P/Q 型 VDCC の発現割合が高いシナプス前終末は GABA の放出確率が低いと考えられた。さらに、 ω -conotoxin GVIA (CgTx; 3 μM) の適用による P/Q-型 VDCC を介したシナプス放出の条件では、細胞外 Ca^{2+} 濃度を上昇させる (4 mM) ことによって、PPR が増加した。また CgTx と P/Q 型 VDCC の賦活薬である roscovitine (30 μM) の併用投与においても PPR は増加した。

以上の結果は、抑制性シナプス伝達の効率、シナプス前終末に発現する VDCC のサブタイプの違いによって制御されていることを示唆している。現在、このような VDCC サブタイプの違いによる短期可塑性は、長期可塑性にも影響することを明らかにしつつあり、併せて本シンポジウムで議論したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US10-3 P/Q- and N-type voltage-dependent calcium channels determine short-term plasticity of GABAergic synapses in the rat insular cortex

○Yamamoto K, Kobayashi M

Dept Pharmacol, Sch Dent, Nihon Univ

Fast transmitter release in the CNS was triggered by the influx of Ca^{2+} into the synaptic terminal through several types of voltage-dependent calcium channels (VDCC). In the cortical excitatory and inhibitory synapses, which types of VDCC, in particular N-type or P/Q-type, serve to release transmitter is controversial.

We focused on inhibitory synaptic connections between GABAergic neurons in the cerebral cortex using multiple whole-cell patch-clamp recordings, and found different expression patterns of VDCCs in the synaptic terminals branched from a single presynaptic neuron. The paired-pulse ratio (PPR; 50 ms interstimulus interval) varied widely among inhibitory connections between GABAergic neurons. The PPR of unitary IPSCs was enhanced by ω -conotoxin GVIA (CgTx; 3 μM), an N-type VDCC blocker, whereas blockade of P/Q-type VDCCs by ω -agatoxin IVA (AgTx; 200 nM) decreased the PPR. In the presence of CgTx, application of 4 mM $[\text{Ca}^{2+}]_o$ or of roscovitine, a P/Q-type activator, increased the PPR.

These results indicated that the recruitment of P/Q-type VDCCs increases the PPR, whereas N-type VDCCs suppress the PPR.

It is suggested that VDCC expression patterns regulate distinctive types of synaptic transmission in each GABAergic axon terminal even though they are branched from a common presynaptic neuron.

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

US10-4 興奮性細胞から非興奮性細胞までの細胞機能を調節する電位依存性 Ca²⁺ チャンネル

○若森 実¹, 吉田 卓史¹, 高橋 かおり¹, 中村 卓史¹, 竹本 さやか²

¹東北大 院歯 歯薬理, ²名古屋大 環医研 分子神経

精神疾患患者のゲノム解読が進み、発症の脆弱性をもたらす候補遺伝子（リスク遺伝子）と、各遺伝子における変異の同定が、国内外で急速に進み、特定遺伝子群が疾患横断的に発症脆弱性に関与することが明らかになってきている。例えば、神経細胞の Ca²⁺ シグナルの中核を担う、電位依存性 Ca²⁺ チャンネル *CACNA* は、疾患横断的に寄与する遺伝子群の 1 例であり、発達障害、統合失調症、および双極性障害など疾患横断的に関与することから、Ca²⁺ シグナル破綻による精神疾患の発症機序の解明が注目されている。電位依存性 Ca²⁺ チャンネルは筋肉や神経などの興奮性組織で重要な役割を担っている一方、非興奮性組織にも電位依存性 Ca²⁺ チャンネルの発現が PCR 法や免疫組織化学法で確認されているが、電位依存性 Ca²⁺ チャンネルの生理機能は不明な点が多い。しかし、Timothy 症候群は電位依存性 L 型 Ca²⁺ チャンネルの点変異（G406R）が原因で、興奮性組織である心臓では QT 延長を含む様々な不整脈、中枢神経系では自閉症スペクトラム障害、痙攣、知的障害などの神経発達障害を伴い、非興奮性組織に関してもエナメル質減形成・上顎骨劣成長、合指症などを呈する（*Cell* 119, 19-31, 2004）。従って、非興奮性細胞に於いても電位依存性 Ca²⁺ チャンネルは重要な役割を担っていることが示唆される。

我々は電位依存性 Ca²⁺ チャンネルの副サブユニット（ α_2 と β サブユニット）を安定発現させた Baby Hamster Kidney (BHK) 細胞に自閉症スペクトラム障害に関与する *CACNA1C* 変異体を発現させ、パッチクランプ法を用いてチャンネルの生物物理学的性質と薬理的性質を解析した。総電流量の増加が認められ、Gain-of-Function の変異であることが判明した。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US10-4 Voltage-gated Ca²⁺ channels regulating cellular functions in excitable and non-excitable cells

○Wakamori M¹, Yoshida T¹, Takahashi K¹, Nakamura T¹, Takemoto S²

¹Div Mol Pharmacol Cell Biophys, Dept Disease Mgt Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ²Div Mol Neurosci, Res Inst Env Med, Nagoya Univ

Voltage-gated Ca²⁺ channels (VGCCs) in excitable cells play pivotal roles ranging from ubiquitous activities like gene expression to tissue specific functions such as neurotransmitter release and muscle contraction. Therefore, mutations in VGCC genes cause various cardiovascular and neurological disorders in excitable cells, including arrhythmia, epilepsy, ataxia, migraine, autistic spectrum disorders and schizophrenia. Function of VGCCs in excitable cells has been well investigated, however, their functions in non-excitable cells remain elusive. Timothy syndrome, caused by a missense mutation G406R of Cav1.2, is characterized by arrhythmias and autism. Interestingly, Timothy syndrome shows abnormalities in tissues consisting of non-excitable cells such as webbing of the fingers and toes, small upper jaw and small teeth. From the clinical perspective we speculate that Cav1.2 plays important roles in non-excitable cells as well as in excitable cells. Unraveling the properties of mutant channel is critical for understanding how the mutation in Cav1.2 ultimately leads to dysfunction of both excitable and non-excitable cells and how Cav1.2 regulates non-excitable cell function under non-pathological conditions.

We are going to present electrophysiological data on Cav1.2 recorded from heterologous expression system.

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

US10-5 カルシウムプローブ G-CaMP による *in vivo* 細胞機能イメージング

○中井 淳一¹, 安藤 恵子¹, 佐藤 正晃², 大倉 正道³

¹東北大 院歯 口腔生理, ²北大 院医 神経薬理, ³九州保福大 薬 応用薬理

カルシウムイオンは細胞内セカンドメッセンジャーとして機能し、筋肉の収縮、神経細胞の化学シナプスでの伝達物質の放出や、分泌腺からのホルモンなどの放出時に、細胞内カルシウムイオンが増加する。我々は GFP を改変してカルシウムイオンの変化で蛍光が変化するカルシウムセンサー分子 G-CaMP (ジーキャンブと読む) を開発した。G-CaMP は遺伝子でコードされているため、遺伝子改変やウイルスベクター、エレクトロポレーション等の方法により G-CaMP の遺伝子を生物に組み込むことにより、細胞特異的に細胞活動に伴う細胞内カルシウムイオンの変化を *in vivo* で可視化することが可能である。神経活動の可視化に関して、ゼブラフィッシュや線虫などの体が小さく透明な生物では、通常 (1 光子励起) のイメージングでかなりのものがイメージング可能であるが、マウスなどの哺乳類では脳が大きく不透明であるため多光子顕微鏡などを用いたイメージングを行う必要がある。

本発表ではこれまで我々が行ってきた細胞レベルもしくは subcellular レベルの分解能での *in vivo* カルシウムイメージングの例を紹介する。脳の深さの異なる部分を観察するためには、多くの場合顕微鏡の焦点面を変える必要があるが、通常焦点面の移動には時間がかかるため、リアルタイム性が犠牲になる。この点について、我々はレンズの厚みを短時間で変化させることが可能な可変焦点レンズを多光子顕微鏡に組み合わせることにより、複数の焦点面を短時間に移動し多光子イメージングを行うことができることを示した。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US10-5 *in vivo* functional imaging with genetically encoded calcium indicator G-CaMP

○Nakai J¹, Gengyo-Ando K¹, Sato M², Ohkura M³

¹Div Oral Physiol, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ²Dept Neuropharmacol, Hokkaido Univ Grad Sch Med; ³2nd Dept Pharmacol, Kyusyu Univ Health Welfare Sch Pharmac Sci

Calcium ion functions as an intracellular second messenger, and intracellular calcium ion increases during muscle contraction, release of transmitters at chemical synapses, and release of hormones from secretory glands. We have modified GFP to develop a calcium sensor molecule G-CaMP whose fluorescence changes with changes in calcium ions. Since G-CaMP is encoded by a gene, by incorporating the G-CaMP gene into an organism it is possible to visualize calcium-ion changes associated with cellular activity *in vivo*. Regarding the visualization of nerve activity in mammals such as mice, it is often necessary to perform imaging using a multiphoton microscope. In order to observe different depths of the brain, in many cases, it is necessary to change the focal plane of the microscope, but it usually takes time to move the focal plane, so real-time performance is sacrificed.

We have shown that by combining a variable-focus lens that can change the lens thickness in a short time with a multiphoton microscope, it is possible to move multiple focal planes in a short time and perform multiphoton imaging.

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

US11-1 マウス歯周組織における老化関連細胞外マトリックス分解酵素の探索-トランスクリプトーム解析を用いたアプローチ

○中村 恵, 笹野 泰之

東北大 院歯 顎口腔組織発生

Matrix metalloproteinases (MMPs), a disintegrin and metalloproteinases (ADAMs), a disintegrin and metalloproteinases with thrombospondin motifs (ADAMTSs) から構成される metzincin superfamily は、主要な細胞外マトリックス分解酵素であり、これまでに 60 種以上のメンバーが同定されている。皮膚では、老化に伴って MMPs の発現レベルが上昇し、基質タンパク質であるコラーゲンが減少するとの報告があり、組織の老化に metzincin superfamily が関与する可能性が示唆された。しかし、歯周組織の老化における metzincin superfamily の発現や役割に関する情報は少なく、その詳細は不明である。近年、遺伝子解析技術の進歩は目覚ましく、次世代シーケンサーを用いることで遺伝子発現を網羅的に解析することが可能となった。

そこで私たちは、歯周組織の老化に関与する metzincin superfamily の特定を目的とし、網羅的遺伝子解析法の一つである CAGE 法を用いて、生後 10 週齢（若齢）と生後 50 週齢（高齢）のマウスの下顎を対象に、トランスクリプトーム解析を行った。CAGE 法による解析の結果、発現変動遺伝子は 381 個あり (FDR < 0.01)、そのうち高齢で遺伝子発現が上昇する metzincin superfamily は MMPs 3, 10, 12 であることがわかった。また、ADAMs と ADAMTSs は発現変動遺伝子の中に含まれていなかった。MMPs 3, 10, 12 について Real-time PCR 法による検証を行ったところ、MMP3 と MMP10 の mRNA 発現レベルは高齢で有意に上昇し、MMP12 についても、統計学的に有意差は認められなかったが高齢で発現レベルが上昇する傾向がみられた。さらに、歯周組織における MMP3 と MMP10 の発現について免疫組織化学的検討を行った。MMP3 の免疫反応は歯根膜と歯槽骨に見られ、MMP10 の免疫反応はセメント質と歯槽骨に見られた。

以上のことから、加齢に伴って歯周組織における MMP3 と MMP10 の発現量が増加し、細胞外マトリックス分解が亢進され、これらの MMPs が歯周組織の老化に関与す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。

US11-1 A search for senescence-associated extracellular matrix proteases in mouse periodontal tissues - an approach with transcriptome analysis -

○Nakamura M, Sasano Y

Div Craniofac Dev Tissue Biol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

The metzincin superfamily, composed of matrix metalloproteinases (MMPs), a disintegrin and metalloproteinases (ADAMs), and a disintegrin and metalloproteinases with thrombospondin motifs (ADAMTSs), is the major family of extracellular proteinases and consists of over 60 members. Previous study reported that the metzincin superfamily is implicated in senescence of tissues. However, the expression and role of the metzincin superfamily in aged periodontal tissues remain unknown. Recently, the next-generation sequencing technology including cap analysis of gene expression (CAGE) has enabled to comprehensively analyze genes.

Thus, we performed CAGE to identify metzincin superfamily members involved in aging of mouse periodontal tissues. CAGE analysis showed upregulation of genes encoding MMPs 3, 10, and 12. Real-time PCR confirmed that the mRNA expression levels of MMP3 and MMP10 were significantly higher in aged mice. The expression level of MMP12 tended to be higher in aged mice. Furthermore, we examined the expression of MMP3 and MMP10 in periodontal tissues immunohistochemically. MMP3 immunoreactivity was seen in periodontal ligaments and alveolar bone, while MMP10 immunoreactivity was in cementum and alveolar bone.

These results suggest that increased expression of MMP3 and MMP10 promotes degradation of the extracellular matrix with age, which contributes to aging of periodontal tissues.

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

US11-2 DNA メチル化異常と口腔粘膜の病的老化について

○安彦 善裕

北医療大 歯 臨床口腔病理

DNA のメチル化は主なエピジェネティックス修飾の一つであり、これまで主に悪性腫瘍の発症、進展に関わる現象として探索が行われてきた。比較的最近になり、糖尿病、アレルギー性疾患、自己免疫疾患、神経変性性疾患など、悪性腫瘍以外でもメチル化異常のみられることが明らかとなってきている。メチル化は正常な老化の過程においても変化し、これらは老化関連メチル化(Age-related methylation: ARM)と呼ばれており、臓器特異的であると言われている。ARM は、暦年齢に対する生物学的年齢（エピジェネティックス的年齢）の指標とされ、病的老化に伴う疾患との関連が注目されてきている。

我々はこれまで CpG island のメチル化異常について悪性腫瘍や前がん病変で検索を行ってきた。最近、これらの疾患以外でのメチル化変化として、Lipopolysaccharide による歯周組織（J Peiodont Res, 2016; Int Endo J, 2020）の細胞外基質タンパク質関連遺伝子の高メチル化や、噛みタバコによる健常口腔粘膜上皮での Sirtuin1 遺伝子の高メチル化（Clin Epigenetics, 2020）などを報告した。すなわち、ある一定の環境条件下では、口腔に病変のみられない状態でも様々な程度でメチル化異常がみられることを明らかにした。この中で、Anti-aging gene として働く Sirtuin1 遺伝子の高メチル化は、病的老化の直接的マーカーとして捉えられることを示唆している。

本シンポジウムでは、DNA のメチル化異常と口腔領域の病的老化、およびその疾患発症のリスクについて議論したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

US11-2 Involvement of aberrant DNA methylation in pathological aging of the oral mucosa

○Abiko Y

Div Oral Med Pathol, Dent Health Sci Univ Hokkaido

DNA methylation is one of the major epigenetic changes, and is most extensively studied in cancer. It has recently been shown that aberrant DNA methylation may cause other common diseases such as diabetes, metabolic diseases, allergies, autoimmune diseases and neurodegenerative diseases. The methylation changes occur in a tissue-specific manner during normal aging, which has been identified as age-related methylation (ARM). ARM is an index biological age (Epigenetic aging clock), and is linked to pathological age-associated diseases.

We have shown aberrant DNA methylations in oral cancer and precancerous lesions. Recently, we demonstrated methylation profiles of the CpG islands of extracellular matrix-related genes in the periodontal cells stimulated with lipopolysaccharide (J Peiodont Res, 2016; Int Endo J, 2020), and hypermethylation of CpG islands of Sirtuin 1 in clinically healthy oral epithelium of tobacco chewers (Clin Epigenetics, 2020). Aberrant methylations are observed even in the absence of oral lesions under certain environmental conditions. The hypermethylation of Sirtuin 1 considered as an anti-aging gene may be a marker for biological age.

In this symposium, involvement of aberrant DNA methylation in pathological aging in oral region will be discussed.

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

US11-3 アルツハイマー病の進行に関わる三叉神経中脳路核の老化について

○後藤 哲哉

鹿大 院医歯 機能形態

我々は歯を喪失した時に生じる三叉神経中脳路核 (Vmes) の神経細胞死がアルツハイマー病 (AD) の進行に関わることを示してきたが、Vmes 神経細胞の「老化」も AD の進行に関与することが考えられた。我々は 3xTg-AD モデルマウスを使い、加齢によってどのような変化が生じるか、それがどのように AD に関わるかについて検討した。Vmes は三叉神経系の神経細胞の中でも特に強くアミロイド β ($A\beta$) が神経細胞内に発現しており、老化に従っての Vmes 神経細胞にも $A\beta$ の沈着が増加した。一方、AD の特徴として細胞外の $A\beta$ を主体としたアミロイド斑の形成がよく知られているが、このアミロイド斑を形成する $A\beta$ がどのように生成されるかはまだ不明な点が多い。

我々は、神経細胞内の $A\beta$ の局在を調べると、小胞体から形成される Heme Oxygenase (HO) 免疫陽性のオートファゴゾームの膜に局在していた。この $A\beta^+ / HO^+$ オートファゴゾームは加齢によって数が増加し、サイズも大きくなっていった。高齢のマウスの $A\beta^+ / HO^+$ オートファゴゾームにはミトコンドリアのみならず細胞毒性を持つ $A\beta_{42}$ が内腔に含まれていた。リン酸化タウ陽性の微小管もオートファゴゾーム内に認められており、Vmes 神経細胞の活発な細胞内代謝を示した。神経細胞は通常寿命が長い細胞であり、オートファゴゾームが多くなれば細胞死が生じるわけでは無いが、 $A\beta_{42}$ やリン酸化タウを含むオートファゴゾームを多く含む神経細胞が、抜歯などの神経損傷によって細胞死が起きてしまうと、細胞内に蓄積した $A\beta_{42}$ やリン酸化タウが細胞外に放出されてしまい、周辺の細胞の細胞死を引き起こし、それがまた細胞死の連鎖を生む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。

US11-3 Aging of the trigeminal mesencephalic nucleus in the progression of Alzheimer's disease

○Goto T

Div Oral Anat Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

We have shown that nerve cell death of the trigeminal mesencephalic nucleus (Vmes) that occurs when teeth are lost is involved in the progression of Alzheimer's disease (AD), and "aging" of Vmes nerve cells also contributes to the progression of AD. Using 3xTg-AD model mice, we found that amyloid β ($A\beta$) was particularly strongly expressed in Vmes among the nerve cells of the trigeminal nervous system, and $A\beta$ deposition was also increased in Vmes nerve cells according to aging. On the other hand, the formation of amyloid plaques mainly composed of extracellular $A\beta$ is well known as a characteristic of AD, but it is still unclear how $A\beta$ forming the amyloid plaques is generated.

We investigated the localization of $A\beta$ in neurons and found that it was localized to the membrane of autophagosomes positive for Heme Oxygenase (HO) formed from the endoplasmic reticulum. The number of $A\beta^+ / HO^+$ autophagosomes increased with age, and the size also increased. $A\beta^+ / HO^+$ autophagosomes in aged mice contained not only mitochondria but also cytotoxic $A\beta_{42}$ in their lumen. Phosphorylated tau-positive microtubules were also found in autophagosomes, indicating active intracellular metabolism of Vmes neurons. Nerve cells are usually long-lived cells, and cell death does not occur if the number of autophagosomes increases. When nerve cells that contain many autophagosomes including $A\beta_{42}$ and phosphorylated tau undergo cell death due to nerve damage such as tooth extraction, intracellularly accumulated $A\beta_{42}$ and phosphorylated tau are released outside the cell; It has been suggested that it causes cell death of surrounding cells, which may also create a chain of cell death.

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

WS-1 成熟期エナメル芽細胞の機能解析から低石灰化型エナメル質形成不全を考 える～基礎と臨床研究の Translation ～

○岡 暁子^{1,2}, 緒方 佳代子^{2,3}, 原田 英光⁴

¹福歯大 小児歯, ²福歯大 口腔医研セ, ³福歯大 機能構造, ⁴岩医大 歯 発生生物

エナメル質形成不全には、遺伝的要因によって生じる遺伝性エナメル質形成不全症や環境的要因によるフッ素症などが存在し、その病態は、エナメル質形成が破綻した時期のエナメル芽細胞の分化段階によって、低形成型、未成熟型、低石灰化型に分類されている。近年、Molar-Incisor-Hypomineralization (MIH) と呼ばれる、中切歯と第一大臼歯に限局したエナメル質形成不全が増加しており、本邦でも約 20% の小児に観察されることが報告された。その病因・病態は未だ解明されていないが、出生後数年間の環境因子を主たる原因とする低石灰化型エナメル質形成不全との見方が強い。

エナメル質は、非代謝性組織であり、形成中に障害されたエナメル質が生体内で修復されることはない。したがって、口腔内に萌出した歯のエナメル質には、形成時期に受けた生体環境の影響がそのまま反映されていると考えられる。MIH の原因が出生後の環境因子にあるとすれば、中切歯と第一大臼歯の歯胚は石灰化期段階にあるため、成熟期エナメル芽細胞の機能異常がエナメル質形成不全を招いた可能性が高い。MIH の病因・病態解明のためにも、成熟期エナメル芽細胞機能への理解が必要である。

本発表では、低石灰化型エナメル質形成不全を考える最初のオーバービューとして、エナメル質独特の石灰化プロセスを担う成熟期エナメル芽細胞についての基礎的研究を振り返り、成熟期エナメル芽細胞の機能破綻が招くエナメル質形成不全の臨床像についても MIH を含めて紹介する。低石灰化型エナメル質形成不全に対する予防を含めた臨床的対応を考える場合においても、成熟期エナメル芽細胞の役割が分子生物学的および機能生理学的に解明されることが重要であることをお示ししたい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

WS-1 Enamel hypoplasia: Consideration of ameloblast function during the maturation stage in clinical and basic research

○Oka K^{1,2}, Ogata K^{2,3}, Harada H⁴

¹Div Pediatr Dent; ²Oral Med Res Ctr; ³Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll; ⁴Div Dev Bio Reg Med, Iwate Med Univ Sch Dent

A variety of genetic and/or environmental factors are necessary for the formation of healthy enamel, ex, amelogenesis imperfecta (AI) and dental fluorosis are caused by genetic and environmental disorders, respectively. Some of factors exert an essential role in enamel formation and any disruption of them results in defects including hypoplastic, hypomaturational and hypocalcified enamel. As current knowledge, Molar-Incisor Hypomineralization (MIH), enamel hypoplasia observed in the first permanent molars and the incisors only, is considered to be caused by an environmental problem at the specific time of dental developmental stage.

Enamel is non-metabolically structure, therefore, the enamel phenotype expresses directly reflects the influence of the biological environment during tooth development. If the cause of MIH is due to postnatal environmental factors, so that the dysfunction of ameloblasts in maturation stage of the first molars and the incisors induces enamel hypoplasia in MIH.

In this presentation, as a first overview, we summarize the current research topics about AI, and also introduce the clinical features, including MIH. We want to share how important to understand the function of ameloblast in maturation stage for considering clinical treatment including prevention for enamel hypoplasia.

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

WS-2 ビタミンDとエナメル質低石灰化症発症との関連

○中村 卓史¹, 若森 実¹, 福本 敏^{2,3}

¹東北大 院歯 歯科薬理, ²東北大 院歯 小児歯, ³九大 院歯 小児口腔

ビタミンDは他のビタミンとは異なり、我々の体内で合成可能なビタミンである。日光紫外線にあたることでコレステロールから合成されるビタミンDは、肝臓、腎臓を介して活性型(1,25OHD₃)となり、血中カルシウム濃度の調節など多くの生命現象に関与している。近年、日光浴時間の減少、日焼け止めの多用などにより、国民的に紫外線曝射時間が低下し、特に母親、胎児、乳幼児のビタミンD欠乏による潜在性くる病が増加し、母子保健において問題になっている。ビタミンD欠乏により発症するくる病は、骨の異常に加えエナメル質形成不全が認められることから、本研究では、ビタミンDがエナメル質形成を担うエナメル芽細胞にどのように作用しているのかを検討した。実験には歯原性上皮細胞株であるSF2および胎生14.5日齢、17.5日齢のマウス歯胚を用いた。細胞および器官培養系に活性型ビタミンDを添加すると、アメロブラスチン、アメロゲンin、MMP-20等のエナメル芽細胞の分化マーカー遺伝子の発現が誘導され、ビタミンDが歯原性上皮細胞をエナメル芽細胞へと分化誘導する作用があることが明らかになった。さらにビタミンDはカルシウム輸送に関わる分子の発現制御を介してエナメルマトリックスの石灰化に重要な役割を演じていることが示唆された。

今回の発表を通じて、第一大臼歯と切歯に限局してエナメル質形成不全が発症する疾患で、現代病とも考えられるMolar-Incisor-Hypomineralization (MIH)でのエナメル質低石灰化発症機序とビタミンDとの関連について議論を深めたい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

WS-2 Regulation of ameloblast differentiation by 1,25 dihydroxycholecalciferol

○Nakamura T¹, Wakamori M¹, Fukumoto S^{2,3}

¹Div Mol Pharmacol Cell Biophys; ²Div Ped Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ³Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

1,25 dihydroxycholecalciferol is the most potent Vitamin D metabolite and is an essential hormone for hard tissue development such as bone and teeth. An inadequate exposure to sunlight or supplementation of vitamin D in children causes rickets, a disease with the mineralization defects in bone and teeth. Recently, the number of identified cases of rickets is increasing in Japan as well as other countries. To clarify the pathogenesis of hypomineralization of teeth in rickets, we analyze the roles of vitamin D in dental epithelial cell differentiation into ameloblasts and in mineralization of enamel matrices.

We will discuss the potential roles of vitamin D in enamel formation and the relationship between hypovitaminosis D and the disease onset of Molar-Incisor-Hypomineralization (MIH), that is considered a kind of modern diseases with a developmental enamel defect characterized by demarcated opacities in permanent first molars frequently associated with the permanent incisors.

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

WS-3 成熟期エナメル芽細胞のイオン輸送機構

○進 正史, 岡本 富士雄, 鍛治屋 浩, 岡部 幸司

福歯大 細胞生理

エナメル質はエナメル芽細胞が分泌したエナメル質タンパクが成熟過程において脱却され、カルシウムやマグネシウムに置き換わることによって硬組織に変化する。エナメル芽細胞はエナメル質形成の責任細胞であるが、同時にエナメル質基質と周囲組織の境界と捉えることもできる。この境界を超えてエナメル質に供給されるカルシウムなどのイオンはエナメル芽細胞が輸送する役割を担っていると考えられる。様々なイオンチャネルやトランスポーターがエナメル芽細胞に発現していることが分かっているが、特に *STIM/ORAI*, *CNNM4*, *SLC24* はヒトにおけるエナメル質形成不全症の原因遺伝子として報告されている。近年、Transient receptor potential (TRP) チャネルの1つである TRPM7 がマウスモデルでエナメル質形成に寄与していることが明らかとなってきた。 *Trpm7* 遺伝子はエナメル芽細胞に高発現し、エナメル芽細胞の分化が進むにつれ発現が上昇する。上皮特異的 *Trpm7* コンディショナル KO マウス (*Trpm7* cKO) はエナメル質石灰化が低下し、エナメル質 Ca 量の低下が認められる。TRPM7 はキナーゼドメインを持ちリン酸化酵素としても機能することから、リン酸化の機能だけを欠失させた点変異マウスを解析したところ、エナメル質形成不全が認められたが、その程度は *Trpm7* cKO マウスほどではなかった。

このことは TRPM7 がエナメル質形成においてイオンチャネル、リン酸化酵素の両方の機能を有していることを示唆している。イオン輸送の詳細な機能やイオンチャネル同士の相互作用等、興味が尽きないが、今後、*in vivo* の解析がエナメル質イオン輸送機構の解明に重要になってくると考えられる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

WS-3 Ion transport in maturation stage ameloblast

○Shin M, Okamoto F, Kajiya H, Okabe K

Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll

Tooth enamel consists of protein-rich matrix at early stage and the proteins are replaced by Ca^{2+} and Mg^{2+} ions during the maturation. Ameloblasts form enamel and also are characterized as barrier between enamel matrix and surrounding tissue. Ameloblasts have role to transport ions into enamel layer. Various ion channels and transporters were identified in ameloblasts. Among them, *STIM/ORAI*, *CNNM4* and *SLC24* are known as genes caused amelogenesis imperfecta. Transient receptor potential M7 (TRPM7), one of the TRP channels has been recently found to function during enamel development in mouse. *Trpm7* gene is highly expressed in ameloblasts, and the expression increases with ameloblast maturation. Enamel in epithelial specific *Trpm7* conditional KO mice (*Trpm7* cKO) decreased degree of calcification and the calcium amount. TRPM7 has kinase domain and works as a kinase. Enamel in TRPM7 kinase dead mice showed malformation, but it was not severe compared with that of *Trpm7* cKO.

The finding suggests that both TRPM7 channel function and kinase function are critical for enamel development. The further *in vivo* experimental system might be needed to understand characteristics of ion channels in enamel development.

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

WS-4 成熟期エナメル芽細胞におけるプロトンポンプの新規機能

○大津 圭史¹, 池崎 晶二郎¹, 後藤 (松元) 奈緒美², 中西 (松井) 真弓², 和田 洋³, 孫-和田 戈虹⁴, 原田 英光¹

¹岩医大 歯 発生生物, ²岩医大 薬 機能生化, ³阪大 産業科学研, ⁴同志社女大 薬 医療薬

成熟期エナメル芽細胞は pH 調節やミネラルの輸送, タンパクの分解吸収を行うことでエナメル質の石灰化を担う。これらの機能は時空間的に厳密に制御されている一方, その破綻は低石灰化型エナメル質形成不全を引き起こす。したがって成熟期エナメル芽細胞制御メカニズムの理解は上記エナメル質形成不全の病因病態の解明や予防・診断・治療法の確立において必要不可欠である。

液胞型 ATPase (V-ATPase) は, リソゾームや細胞膜に局在し, ATP の加水分解と共役してプロトンを輸送して酸性環境を形成するプロトンポンプである。V-ATPase は 13 種のサブユニットから成り, そのうち 6 種には細胞・オルガネラ特異的なアイソフォームが存在している。これまで成熟期エナメル芽細胞に V-ATPase が発現し, 細胞外環境の酸性化に関与していることは知られていたが, そのアイソフォーム特異性と機能は詳細に検討されていない。そこで, 我々は, 成熟期エナメル芽細胞における V-ATPase の発現をマウスの歯を用いて詳細に調べたところ, 大理石病の原因遺伝子として知られる $\alpha 3$ アイソフォームが基底側に強く発現していることがわかった。そこでエナメル芽細胞特異的 $\alpha 3$ 欠損マウスを作成したところ, 白濁やクラックを伴ったエナメル質形成不全が起こり, 組織学的解析から成熟期特異的に形態異常や嚢胞形成, エナメル基質からの剥離が見られた。さらに $\alpha 3$ 欠損細胞の機能解析や RNA-seq データ解析などから, 細胞外酸性環境の形成に加え, 細胞外基質等を含んだ小胞の細胞内輸送を制御していることが明らかとなった。

本講演では, エナメル質石灰化におけるプロトンポンプの多彩な役割とその破綻がもたらす先天性低石灰化型エナメル質形成不全症の発症の可能性, さらには Molar-Incisor Hypomineralization (MIH) の関連遺伝子になり得るかについて議論したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

WS-4 The novel role of proton pump in maturation stage ameloblast.

○Otsu K¹, Ikezaki S¹, Goto-Matsumoto N², Nakanishi-Matsui M², Wada Y³, Sun-Wada G-H⁴, Harada H¹

¹Div Dev Bio Reg Med, Iwate Med Univ Sch Dent; ²Dep Biochem, Iwate Med Univ Sch Pharm; ³Div Biol Sci, Inst Sci Ind Res, Osaka Univ; ⁴Dept Biochem, Doshisha Women's Coll

Maturation stage ameloblasts (MSAs) are responsible for enamel mineralization. Thus, a deep understanding of the regulatory mechanism of MSAs is essential for elucidating the pathogenesis of enamel hypomineralization.

Vacuolar ATPase (V-ATPase) is a proton pump, which transports proton coupled with ATP hydrolysis to form an acidic environment. Although V-ATPase was known to be expressed in MSAs, the isoform specificity and the detailed function remain unknown. Therefore, we investigated the expression of V-ATPase in mouse ameloblasts in detail and found that $\alpha 3$ isoform, which is a causative gene of osteopetrosis, was specifically expressed in MSAs. Then, we showed that ameloblasts-specific $\alpha 3$ knock out mice presented enamel hypomineralization. The histological analysis revealed that MSAs had an abnormal morphology, detached from enamel matrix and formed cyst in the mice. Furthermore, the functional analysis and RNA-seq analysis of $\alpha 3$ knock out cells revealed that $\alpha 3$ was essential for acidification of extracellular environment, and vesicular transport containing extracellular matrix.

In this presentation, we will discuss various roles of proton pump in enamel mineralization, the possibility of congenital enamel hypomineralization caused by its disruption, as well as whether the proton pump could be a causative gene of Molar-Incisor Hypomineralization (MIH).

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

WS-5 成熟期エナメル芽細胞における G タンパク質共役型受容体の機能解析

○千葉 雄太¹, 斎藤 幹¹, 吉崎 恵悟², 福本 敏^{1,2}

¹東北大 院歯 小児歯, ²九大 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, 多様な細胞機能を制御する. 組織特異的な GPCR は器官発生において重要な役割を持つことが知られているが, 歯の発生過程における GPCR の機能は未だに不明である.

我々は歯の発生に関わる新規機序解明を目指し, 歯胚遺伝子発現ライブラリから, 今までに機能の報告がない遺伝子の同定と機能解析を行ってきた. 今回, 成熟期エナメル芽細胞に高発現する Gpr115 を同定し, その機能解析を行った. Gpr115 欠損マウスを作成したところ, 切歯が白濁しており, エナメル質形成不全の表現型を呈していた. エナメル質石灰化過程では hidroキシアパタイト形成に伴い, エナメル基質中に多量のプロトンが発生するが, 成熟期エナメル芽細胞は重炭酸緩衝系を利用し, 細胞外 pH の過度の低下を防いでいる. しかしながら, Gpr115 欠損マウス歯胚では成熟期エナメル芽細胞における炭酸脱水素酵素 Car6 の遺伝子発現低下を認め, エナメル基質の酸性領域が増大しており, エナメル質の hidroキシアパタイト結晶が粗造となっていた. 歯原性上皮細胞株を用いた解析では, 酸性環境下において Gpr115 及び Car6 の遺伝子発現が誘導され, さらにその Car6 の発現誘導は Gpr115 の下流シグナルで制御されていることが明らかとなった.

これらの結果から, エナメル質石灰化過程において, 成熟期エナメル芽細胞に限局して発現する Gpr115 は, 細胞外 pH 低下に伴い転写され, Car6 遺伝子発現を誘導することにより, 重炭酸緩衝系によるプロトンの中和に関与し, hidroキシアパタイト結晶の成長を促進することが示唆された. 加えて, 本講演では成熟期エナメル芽細胞に発現し, エナメル質石灰化過程に関わる他の GPCR ファミリーについても紹介する予定である.

[利益相反] 著者は利益相反がないことを宣言する.

WS-5 Functional analysis of G-protein coupled receptors in maturation stage of ameloblast

○Chiba Y¹, Saito K¹, Yoshizaki K², Fukumoto S^{1,2}

¹Div Ped Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ²Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

In this symposium, we would like to discuss other GPCR family members that are expressed in maturation stage of ameloblast and contribute enamel mineralization processes. G protein-coupled receptor GPCRs regulate various cellular functions via intracellular signaling regulated by G proteins. Tissue-specific GPCRs play important roles in organ development processes, however, it is little known about the roles of GPCRs during tooth development.

In this study, we found that uncharacterized GPCR Gpr115 was highly expressed in maturation stage of ameloblast. We created Gpr115-knockout (Gpr115-KO) mice and found that Gpr115-KO incisors were chalky-white in color, which indicates enamel hypoplasia. In Gpr115-KO tooth germ, the expression of carbonic anhydrase 6 (Car6) was suppressed in maturation stage of ameloblast and showed larger acidic area in enamel matrices, resulting in porous enamel crystal. In vitro analysis revealed that the decline of extracellular pH induced the expression of Gpr115 and Car6 in dental epithelial cell line. Further, this induction of Car6 was regulated by downstream signal of Gpr115.

Taken together, Gpr115 specifically expressed in maturation stage of ameloblast was induced according to extracellular pH decline and contributes enamel mineralization processes by bicarbonate buffer system via induction of the expression of Car6.

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

01-01 小児の睡眠周期に関連したリズム性咀嚼筋活動の発生様態

○白石 優季^{1,2}, 山城 隆², 加藤 隆史¹

¹阪大 院歯 口腔生理, ²阪大 院歯 矯正

【目的】睡眠時ブラキシズム (sleep bruxism: 以下SB) は, 小児において発生率が高く, 加齢に伴い減少することが知られているが, その病態生理機構は不明である. 本研究では, SBを有する小児におけるリズム性咀嚼筋活動 (rhythmic masticatory muscle activity: 以下RMMA) の発生と, 睡眠周期に伴う脳波, 覚醒, 体動, 自律神経活動の変動との関係を明らかにすることを目的とした.

【方法】中等症以上のSB群 (14名, 10.4 ± 2.5歳), 対照群 (15名, 10.6 ± 3.2歳) を対象に, 終夜ポリソムノグラフィー検査を実施した. 睡眠段階や覚醒, 体動を通法に従って視覚的に判定した. また, 咬筋筋電図および音声ビデオ記録をもとにRMMAを同定した. 高速フーリエ変換を用いて脳波の徐波活動を, Complex Demodulation法を用いて自律神経活動を定量化した. さらに, 各睡眠周期を, NREM睡眠を4等分したNREMセグメントとREMセグメントの計5セグメントに分割し, 各セグメントにおける徐波活動, 自律神経活動や, RMMA, 覚醒, 体動の発生頻度を算出した.

【結果】各睡眠周期における徐波活動や自律神経活動の変動に両群で差を認めなかった. 睡眠周期全体において, RMMAの発生頻度は, SB群は対照群より有意に高かった. しかし, SB群では, REM睡眠直前のNREMセグメントでRMMAが多く発生した. このNREMセグメントでは, 覚醒・体動の発生頻度が高く, 徐波活動の減少と自律神経活動の上昇を認めた.

【結論】以上の結果から, 小児のSB患者では睡眠中の各生理機能の周期的な変動は正常だが, RMMAはREM睡眠へ移行する特定の期間で発生頻度が増加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.

01-01 Association between rhythmic masticatory muscle activity and sleep cycles in children

○Shiraishi Y^{1,2}, Yamashiro T², Kato T¹

¹Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent; ²Dept Orthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent

Sleep bruxism (SB) is prevalent in children. However, the pathophysiology remains unknown. This study aimed to assess the occurrence of rhythmic masticatory muscle activity (RMMA) in association with cyclic sleep fluctuations. Polysomnographic recordings were done for SB children (9 boys and 5 girls, 10.4±2.5 y.o.) and control children (4 boys and 11 girls, 10.6±3.2 y.o.). RMMA, arousals and movements were visually scored. Cortical delta power and autonomic activity were quantified. Each sleep cycle was divided into four NREM sleep segments and one REM sleep segment. Delta power, autonomic activity, the frequency of RMMA, arousals and movements were calculated for each segment. Both groups had normal sleep architecture. The cyclic changes of delta power and autonomic activity over sleep cycles did not differ between the two groups. RMMA occurred more frequently in SB children than controls over sleep cycles. In SB children, RMMA episodes and arousals occurred most frequently in the last NREM segments before REM sleep, characterized by a decrease of delta power and an increase of autonomic activity. The results suggest that SB children had an altered oromotor response to cyclic sleep changes compared to controls under normal cyclic sleep processes.

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

01-02 睡眠時ブラキシズムにおける睡眠時咬筋トーンスの定量的解析

○豊田 理紗^{1,2}, 加藤 隆史¹

¹阪大 院歯 口腔生理, ²阪大 院歯 義歯・高齢

【目的】 睡眠時ブラキシズム (Sleep Bruxism: SB) では, 睡眠中にリズム性咀嚼筋活動 (Rhythmic masticatory muscle activity: RMMA) が頻発する. SB 患者では咬筋運動ニューロンの興奮性が高く, 睡眠中の筋トーンスが高いと考えられてきたが, その仮説は実証されていない. 本研究では, 睡眠中の咬筋トーンスを定量的に解析し, SB 患者群と対照群で比較検討することを目的とした.

【方法】 若年被験者にポリソムノグラフィー検査を施行した. 睡眠段階 (StageN1, N2, N3, R) は米国睡眠医学会の判定基準に準拠して判定した. 通法に従い RMMA を視覚的に判定し, その発生頻度が 2 回 / 時未満の対照群 (11 名, 平均年齢 23.1 ± 1.2 歳) と 4 回 / 時以上の中等症以上の SB 群 (15 名, 23.2 ± 1.2 歳) を解析対象とした. 各睡眠段階における RMMA の発生頻度を算出した. 咬筋活動は, 1 秒間のミニエポック毎に咬筋筋電図活動の積分値を算出した. 積分値を対数変換した後に, 混合ガウスモデルクラスター分析を用いて, 咬筋トーンスを示す低い活動レベルのクラスターを同定し, その活動量を比較した.

【結果】 二群間での各睡眠段階の占有率に有意な差を認めなかった. しかし, RMMA の発生頻度はすべての睡眠段階において, 対照群よりも SB 群で高かった. 睡眠中のミニエポックの大部分において, 咬筋活動が非常に低いレベルを示した. クラスター分析によって, 同定したクラスターの各睡眠段階における咬筋の平均活動量は, StageN1 で最も高く, ついで StageN2 と N3 では同等であり, StageR で最も低かった. しかし, すべての睡眠段階で, 二群間に差を認めなかった.

【結論】 以上の結果から, SB 群では RMMA が頻発するが, 咬筋トーンスは正常であ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.

01-02 Quantitative analysis of masseter muscle tone during sleep in patients with sleep bruxism

○Toyota R^{1,2}, Kato T¹

¹Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent; ²Dept Prosthodont Gerodont, Osaka Univ Grad Sch Dent

Introduction: Patients with sleep bruxism (SB) are believed to show increased jaw muscle excitability.

Purpose: The purpose of this study was to compare masseter muscle tone between SB and control subjects.

Methods: Video-PSG recordings were done for two nights. The data of the second night was used for the diagnosis of SB and the analysis of electromyographic (EMG). Rhythmic masticatory muscle activity (RMMA) was scored according to the standard rule. To quantify of masseter muscle tone, EMG was integrated for one-second mini-epoch over the night. The values were logarithmically converted and then a Gaussian mixture model clustering analysis was performed to determine the cluster representing a low-level EMG activity, i.e., muscle tone.

Results: RMMA occurred more frequently in SB than control subjects over all sleep stages. Mean values of the cluster with a low-level EMG activity were the highest in StageN1 and the lowest in StageR. However, No difference was found between the groups for all sleep stages.

Conclusions: These results suggest that contrary to common brief, SB patients have normal stage-dependent control of masseter muscle tone during sleep although rhythmic activations are exaggerated.

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

01-03 繰り返しトレッドミル運動は社会的敗北ストレスによる顎顔面領域の侵害応答増大を抑制する

○長谷川 真奈¹, 岡本 圭一郎², 藤井 規孝¹, 山村 健介²

¹新潟大 院医歯 歯臨床教育, ²新潟大 院医歯 口腔生理

運動療法は心理的ストレスに起因する痛みを軽減する。本研究では、繰り返しトレッドミル運動が、社会的敗北ストレス処置による顎顔面部の痛みを軽減させるか否かを、マウスを用いた行動学的手法で検討した。雄性 C57BL/6J マウス（テストマウス）と ICR（居住マウス）を用いた。テストマウスのうち、居住マウスのケージに入れ、直接、居住マウスに接触させた（10分/日、10日間）個体をストレス群、居住マウスのケージに入れない個体を非ストレス群とした。ストレス群と非ストレス群を、2群にわけ、トレッドミル運動（6 m/分×30分×10日間）を実施した群と、しなかった群（非運動群）の計4群とした。トレッドミル運動は各ストレス処置の30分後に実施した。ストレス処置開始後、11日目、左側咬筋への2.5%ホルマリン注入によるグルーミング等の疼痛関連行動を30分間計測し、顎顔面部の侵害応答を定量した。疼痛関連行動をearly phaseとlate phaseに区分し4群の結果を比較検討した。非運動群では、ストレス群（n=9, early: ~83.3秒, late: ~160秒）は、非ストレス群（n=9, early: ~42秒, late: ~90秒）と比較し、early, late phase共に疼痛行動が有意に増加した。ストレス群では、運動群（n=9, early: ~67秒, late: ~110秒）は、非運動群（n=9, early: ~84秒, late: ~160秒）と比べ、Late phaseで、疼痛関連行動の有意な短縮が、認められた。一方、非ストレス群では運動群と非運動群の間に、疼痛関連行動に有意な差はなかった。以上より、10日間のトレッドミル運動は、社会的敗北ストレス誘発性の顎顔面領域の侵害応答の増大を抑制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。

01-03 Repeated treadmill running exercises reduced orofacial hyperalgesia following social defeat stress in mice

○Hasegawa M¹, Okamoto K², Fujii N¹, Yamamura K²

¹Div Dent Clin Educ, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ²Div Oral Physiol, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ

Physical exercise can reduce chronic pain related to psychological stress. This study determined the effects of repeated treadmill running on orofacial hyperalgesia in a mouse model of psychosocial stress. Adult male C57BL/6J (Experimental group) and ICR (Resident aggressors) mice were subjected to Social Defeat Stress (SDS) or sham conditionings (10 min/day, 10 days). Experimental group was used for the further experiments as stressed animals. Treadmill running exercises was conducted in SDS and sham groups (6 meter/min, 30 min/day) 30 min after each SDS or sham conditioning. On Day 11, SDS and sham groups were subjected to orofacial formalin test. Formalin was injected into the masseter muscle to measure the duration of grooming behaviors in early and late phases. In non-treadmill exercise group, SDS significantly increased orofacial behaviors compared to non-SDS group in both phases. In SDS group, treadmill exercises significantly reduced grooming behaviors in late phase compared to non-exercise group. In sham group, treadmill exercises had less effect on grooming behaviors compared to non-exercise mice. These finding indicated that repeated treadmill running may suppress enhanced orofacial nociception induced by psychosocial stress.

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

01-04 ラットにおける閉口筋筋紡錘感覚の視床髄板内核群への投射

○佐藤 文彦, 堤 友美, 古田 貴寛, 吉田 篤

阪大 院歯 口腔解剖 2

我々は Tourette syndrome (TS) 患者の症状が歯科スプリントの咬合で抑制されることを報告している (Murakami, Yoshida et al., 2019 Movement Disorders). TS 患者には視床髄板内核群への脳深部刺激療法 deep brain stimulation が, 既に治療法として用いられている. 従って両治療法は脳の同一部位に影響を与えている可能性が考えられる. そこで我々は歯科スプリントの咬合で賦活された閉口筋筋紡錘 jaw-closing muscle spindles (JCMSs) からの深部感覚 (JCMS 感覚) が視床髄板内核群へ伝達される可能性を考えた. これを証明するために我々は, ラットの JCMSs から視床髄板内核群への JCMS 感覚の入力があるかどうかを形態学および電気生理学的に調べた. 最初に順行性神経トレーサー biotinylated dextranamine (BDA) を JCMS 感覚が入力することを電気生理学的に明らかにした三叉神経上核に注入した. その結果, 多数の BDA 標識終末が視床髄板内核群の oval paracentral nucleus (OPC) に両側性に認められた. また両側の咬筋神経の電気刺激および持続的開口 (閉口筋が伸張し JCMS 感覚が賦活される) に対する応答が OPC から記録された. 次に, その記録部位である OPC に逆行性神経トレーサー cholera toxin B subunit または Fluorogold を注入した. その結果, 標識神経細胞体が両側性に三叉神経上核の吻背側部に認められた. これらより JCMS 感覚は三叉神経上核経由で視床髄板内核群の OPC に伝達されることが明らかになった. 本研究によって, 深部感覚の視床までの経路の一つが明らかになった. また, この経路の賦活が TS 患者の治療に関与す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.

01-04 Ascending projection of jaw-closing muscle-proprioception to the intralaminar thalamic nuclei in rats

○Sato F, Tsutsumi Y, Furuta T, Yoshida A

Dept Oral Anat Neurobiol, Osaka Univ Grad Sch

An invasive intralaminar thalamic stimulation and a non-invasive application of oral splint are both effective in treating tic symptoms of patients with TS. Therefore, these two treatments may exert some influence on the same brain region in TS patients. We thus hypothesized that the proprioceptive input arising from the muscle spindles of jaw-closing muscles (JCMSs) is transmitted to the intralaminar thalamic nuclei. To test this issue, we morphologically and electrophysiologically examined the thalamic projections of proprioceptive input from the JCMSs to the intralaminar thalamic nuclei of rats. We first injected an anterograde tracer, biotinylated dextranamine, into the supratrigeminal nucleus which received proprioceptive inputs from the JCMSs. A moderate number of biotinylated dextranamine-labeled axon terminals were bilaterally distributed in the oval paracentral nucleus (OPC) of the intralaminar thalamic nuclei. We also detected electrophysiological responses to the electrical stimulation of bilateral masseter nerves and to sustained jaw-opening in the OPC. After injection of retrograde tracer (cholera toxin B subunit or Fluorogold) into the OPC, neuronal cell bodies were retrogradely labeled in the rostradorsal portion of the bilateral supratrigeminal nucleus. Here, we show that proprioceptive inputs from the JCMSs are conveyed to the OPC in the intralaminar nuclei via the supratrigeminal nucleus.

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

01-05 ラットの体性感覚閾値低下を誘発する慢性間歇的低酸素の三叉神経系への影響

○片桐 綾乃¹, 岸本 沙樹^{1,2}, 加藤 隆史¹

¹阪大 院歯 口腔生理, ²阪大 院歯 麻酔

【目的】 慢性的に間歇的低酸素状態が生じる睡眠時無呼吸患者では、体性感覚閾値が低下することが報告されている。睡眠時の間歇的低酸素が、三叉神経領域の特発性疼痛の要因の一つである可能性がある。慢性間歇的低酸素負荷によって誘発した体性感覚閾値の低下と三叉神経系の可塑的变化を解明する。

【方法】 SD 雄性ラットに対し、明期 (14:00-20:00 : 睡眠時間帯) の間歇的低酸素 (chronic intermittent hypoxia: CIH) を 16 日間負荷する群 (CIH-16d) 群と 8 日間の負荷後に 8 日間正常酸素状態 (Normoxia: Nrmx) で飼育する (CIH8d-Nrmx8d) 群を作成した。カプサイシン点眼により角膜の痛覚を、カプサイシン溶液の選択性により口腔内の痛覚を評価した。三叉神経節での TRPV1 発現およびサテライトグリア細胞の活性化、三叉神経脊髄路核尾側亜核での cFos 発現およびグリア細胞の活性化を解析した。

【結果】 CIH 負荷期間中の暗期 (活動時間帯) の活動量が低下した。顔面への引っかき行動が増加した。カプサイシン点眼に対する瞬目回数が増加し、カプサイシン溶液の選択性が低下した。CIH8d-Nrmx8d 群では、CIH 負荷を終了すると、これらの行動の変化は認められなくなった。三叉神経節では、CIH 負荷により TRPV1 発現および活性型サテライトグリア細胞や、三叉神経脊髄路核での cFos 発現が増加した。しかし、CIH8d-Nrmx8d 群では、CIH 負荷終了後の可塑的变化を認めなかった。また、三叉神経脊髄路核でのグリア活性には変化が認められなかった。

【考察】 CIH 負荷により、C-fiber を含む末梢感作と三叉神経脊髄路核ニューロンの中枢感作が生じた結果、器質的变化を伴わずに、三叉神経領域の体性感覚閾値低下を惹起することが証明された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

01-05 Impacts of chronic intermittent hypoxia on the trigeminal somatosensory system in rats

○Katagiri A¹, Kishimoto S^{1,2}, Kato T¹

¹Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent; ²Dept Dent Anesth, Osaka Univ Grad Sch Dent

Purpose: The purpose of this study was to investigate the immunohistochemical changes in the trigeminal ganglion and trigeminal subnucleus caudalis after chronic intermittent hypoxia (CIH) in association with ocular and intraoral sensitivity.

Methods: Male Sprague-Dawley rats were exposed to chronic intermittent hypoxia (CIH) in the light phase (14:00-20:00; sleep period) for 16 days. Ocular sensitivity and intraoral sensitivity to capsaicin were assessed. The TRPV1-positive neurons and activated satellite glial cells in the trigeminal ganglion, and cFos-positive neurons and activated glial cells in trigeminal subnucleus caudalis were analyzed.

Results: Ocular sensitivity and intraoral sensitivity to capsaicin were increased during CIH loading; however, the hypersensitivity was recovered after removal for CIH. The number of TRPV1-positive neurons and activated satellite glial cells in the trigeminal ganglion increased. The number of cFos-positive neurons was also increased. However, no changes were found for the activated glial cells.

Conclusion: CIH induces reversible hypersensitivity in ocular and intraoral accompanied by peripheral and central sensitization.

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

01-06 レバー押しタスク学習ラット島皮質ニューロンにおける文脈依存的味覚応答○梶原 美絵^{1,2}, 小林 真之²¹日大 歯 麻酔, ²日大 歯 薬理

味覚を司る島皮質には興奮性ニューロンおよびGABA作動性抑制性ニューロンが存在する。これらニューロンは甘味、酸味、塩味、苦味といった基本味に反応するだけでなく、味覚嗜好性に関与すると考えられている。また島皮質のニューロンは、可塑的变化によって文脈依存的に活動することが明らかとなっており、これらの性質が味覚嗜好性に影響していると考えられる。しかし、味覚刺激受容時の島皮質ニューロン、特に抑制性ニューロンの活動については不明な点が多い。そこで文脈依存的状況下における味覚刺激受容時の島皮質ニューロンの活動を明らかにするため、ビーブ音の後にレバー操作を行うとサッカリン溶液が得られる課題をラットに学習させ、細胞外記録法を用いて味覚刺激受容前後の抑制性および興奮性ニューロンの活動変化を解析した。記録ニューロンは発火特性により抑制性 (fast-spiking 様ニューロン; FSL) と興奮性ニューロン (non-FSL) に分類した。サッカリン溶液受容前では、40%のFSLで発火頻度の上昇が認められ、この内の54%のニューロンはサッカリン溶液受容後も継続して発火頻度の上昇を認めた。一方、サッカリン溶液受容前に反応したnon-FSLは45%であり、55%のニューロンは発火頻度の変化を示さなかった。味覚刺激受容前に反応しなかったnon-FSLの内、66%は味覚刺激受容後も発火頻度に顕著な変化は認めなかった。以上の結果は文脈依存的な味覚刺激受容においてFSLの反応性が高いことを示している。さらに、同時記録したFSLおよびnon-FSLの活動同期性について検討をしたところ、課題開始から終了まで一貫して発火同期性が高いFSL / non-FSLペアの割合が高かった。したがって文脈依存的な味覚刺激反応では抑制性ニューロンが興奮性ニューロンを制御することによって、興奮性ニューロンの働きを調節している可能性が考えられる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。**01-06 Context-dependent neural activity of gustatory neurons in the insular cortex during a cue-guided lever-manipulation task**○Kajiwara M^{1,2}, Kobayashi M²¹Dept Anesthesiol, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

The insular cortex (IC) is a structure for the gustation and is consisted of GABAergic inhibitory neurons and glutamatergic excitatory neurons. It is well known that IC neurons not only respond to four basic taste stimuli but also code gustatory palatability. Furthermore, previous studies demonstrate that IC neurons show the context-dependent firing activities and their neural activities are plastic. However, little is known how IC neurons, especially inhibitory neurons, behave in the cortical local circuit during a gustation-related task. Here, we performed extracellular unit recording from rat insular cortical neurons during a cue-guided lever-manipulation task in which saccharin solution was provided as a reward. We classified recorded neurons into putative inhibitory neurons as FSL and putative excitatory neurons as non-FSL. During a reward-waiting period, 40% of FSL increased their firing frequencies, and 54% of the increased FSL during the waiting period were facilitated during the taste-intake period. On the other hand, most non-FSL did not show a significant change in the firing frequency during the reward-waiting period and taste-intake period. Thus, putative inhibitory neurons are more sensitive to the context-dependent taste stimuli than putative excitatory neurons, and this profile contributes to sharpen taste palatability.

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

01-07 中脳水道周囲灰白質腹外側部へ投射するニューロンの解剖学的特性

○Kawasaki Shiori, 中谷 有香, 小林 真之

日大 歯 薬理

三叉神経領域の慢性疼痛は口腔顔面部に激しい痛みを惹起し、遷延化するため患者の QOL を著しく低下させる。慢性疼痛患者では、末梢神経系の異常のみならず中枢神経系における疼痛抑制系神経回路に変調をきたしている可能性があるがその詳細については不明である。そこで本研究では、下行性疼痛抑制系を司る中脳水道周囲灰白質の中でも特に慢性痛に関与すると考えられている腹外側部 (vIPAG) に着目して疼痛制御系の中枢神経回路に変調をきたす可能性がある脳領域について解剖学的に検討した。実験には VGAT-Venus トランスジェニックラットを用い、抑制性ニューロンを識別した上で Alexa488 もしくは Alexa647 で蛍光ラベルされた逆行性トレーサーであるコレラトキシン B (CTB) を vIPAG に注入した。1 週間後に CTB 陽性細胞が観察される脳領域について網羅的に検索し、投射ニューロンの形態学的特性を解析した。CTB 陽性細胞は視床下部腹側核と扁桃体中心核のほか、島皮質、前頭前野および一次体性感覚野に分布が認められた。これら大脳皮質の CTB 陽性細胞は主に 5b 層に分布する大型錐体細胞が大部分を占めていた。次に島皮質口腔関連領域に赤色蛍光タンパクである mCherry をコードするアデノ随伴ウイルスを注入し、約 1 ヶ月後 mCherry で標識されている軸索の分布を検索したところ、vIPAG 内にも標識された軸索が観察された。なお vIPAG には抑制性ニューロンが興奮性ニューロンに混在して存在しているが、島皮質からの軸索投射には 2 者間で大きな偏りは認められなかった。以上の結果から下行性疼痛抑制系に深く関与する中脳水道周囲灰白質は、情動や睡眠・覚醒サイクルを制御する様々な脳領域のみならず口腔に関連する大脳皮質からも入力を受けることが明らかになった。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。**01-07 Anatomical mapping of projection neurons to the ventrolateral part of the periaqueductal gray matter in the rat**

○Kawasaki S, Nakaya Y, Kobayashi M

Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

The ventrolateral periaqueductal gray matter (vIPAG) controls the descending pain inhibitory system, however it has been still unknown how neural activities of the vIPAG are regulated by higher brain regions. We anatomically explored brain regions that project to the vIPAG especially focusing on the higher brain regions. VGAT-Venus transgenic rats, which enable us to identify GABAergic/glycinergic neurons, received injection of a retrograde tracer, cholera toxin B (CTB) fluorescently labeled with Alexa488 or Alexa647, into the vIPAG. The CTB-positive neurons were distributed in the ventral hypothalamus, central amygdala, and cerebral cortex including insular, prefrontal, and primary somatosensory cortices. Most of these CTB-positive neurons in the cerebral cortex were large pyramidal cells in layer Vb. Next, adeno-associated virus encoding mCherry, the red fluorescent protein, was injected into the orofacial-region-related insular cortex. The distribution of axons labeled with mCherry in the vIPAG was examined one month after injection. The vIPAG involves inhibitory neurons mixed with excitatory neurons, but no significant difference was observed between them in terms of axon projection from the insular cortex. These results suggest that the vIPAG receives projections not only from brain regions that control emotion and sleep/awake cycles but also from the cerebral cortex related to orofacial region.

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

01-08 ラット島皮質 GABA 作動性抑制性シナプス伝達におけるニューロン依存的長期可塑性メカニズムの解明

○千喜良 緑^{1,2}, 山本 清文², 小林 真之²

¹日大 歯 麻酔, ²日大 歯 薬理

【目的】 歯科・口腔外科治療における末梢神経損傷は、しばしば異所性疼痛や痛覚過敏を惹起し難治性の経過を辿る。要因の一つに、末梢神経損傷により口腔顔面領域の感覚情報が入力する大脳皮質島領野 (IC) の神経回路の改変を起こすことが挙げられる。皮質の抑制性ニューロンの中でも fast-spiking ニューロン (FSN) は、興奮性ニューロンである錐体細胞 (PN) を強力に抑制する為、この抑制性神経伝達の長期増強により、IC へ入力する異常な感覚情報をフィードバック制御できる可能性がある。これまで、興奮性神経伝達の長期増強や長期抑圧を示す可塑性 (LTP/LTD) について盛んに研究されている一方で、抑制性神経伝達のそれについては未解明である。今回、口腔顔面領域における異常疼痛の抑制を最終目標とし、その基礎的知見を得るため電気生理学的手法により抑制性神経伝達の LTP/LTD を起こすメカニズムをイオンチャンネルレベルで解明することを目的とした。

【方法】 ラット急性脳スライス標本を作製し、多チャンネル・ホールセル・パッチクランプ法にて IC の FSN と PN 間の単一抑制性シナプス後電流 (uIPSC) を記録後、FSN に高頻度刺激を行い、uIPSC の LTP/LTD の発生頻度を観察した。

【結果】 共通する FSN の高頻度刺激に対し、PN に投射するシナプスにおいて LTP および LTD を生じるペアが観察された。興味深いことに、LTP 誘発前の 2 連刺激によって算出される uIPSC の振幅比 (PPR) と刺激後の IPSC 振幅増加率に相関関係が見いだされた。また、uIPSC の平均振幅と刺激後の uIPSC の振幅増加率に負の相関が認められた。

【考察】 IC において、興奮性シナプスと同様に抑制性シナプスにおいても LTP/LTD が誘発された。加えて、LTP/LTD の発生はシナプス毎に異なり、シナプス前終末の伝達物質の放出確率を含む放出様式に依存することが示唆された。この性質を利用し IC のシナプス可塑性を制御することで、近い将来、異常疼痛を治療できる可能性がある。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

01-08 Mechanisms for the induction of long-term plasticity in GABAergic inhibitory synapses of the insular cortex

○Chikira M^{1,2}, Yamamoto K², Kobayashi M²

¹Dept Anesthesiol, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

Injury of the peripheral nerves caused by dental treatment induces not only ectopic discharge and hypersensitivity in the peripheral nervous system but also intractable plastic changes in the central nervous system after recovery of the peripheral nerve damage. Our previous data showed hyperexcitability of the insular cortex (IC) was observed in the ectopic pain model animal, indicating an involvement of IC in the abnormal pain. Therefore, we hypothesize that long-term potentiation (LTP) of inhibitory synapses could make it possible to potentiate feed-back inhibition in the IC local circuits, which effectively suppresses abnormal pain. Although LTP in the excitatory synapses has been well explored, the mechanisms underlying LTP in the inhibitory synapses are largely unknown. In the present study, we performed multiple whole-cell patch-clamp recordings from fast-spiking cells (FSNs) and pyramidal cells (PNs) in IC to explore the mechanisms of LTP in inhibitory synaptic transmission. A high-frequency burst stimulation to the presynaptic FSNs often induced a divergent plastic changes, i.e. LTP and long-term depression (LTD), even though the presynaptic FSNs were common. We found a positive correlation between normalized unitary IPSCs and the paired-pulse ratio of IPSCs, suggesting that induction of LTP strongly depends on presynaptic synaptic properties.

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

01-09 咬合異常によるストレスは、レニンアンジオテンシン系を介し心機能に影響を及ぼす

○伊藤 愛子¹, 大貫 芳樹², 梅木 大輔¹, 吹田 憲治², 石川 美紗緒³, 八木澤 由佳¹, 松尾 一朗⁴, 早川 佳男⁵, 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, ⁴鶴大 歯 歯周病, ⁵鶴大 歯 麻酔

【目的】咬合不調和は交感神経活動を増加させ、心機能の恒常性を阻害することが報告されている。また、レニンアンジオテンシン系 (RAS) 阻害剤であるカプトプリル (Cpt) は、心臓リモデリングに対する抑制効果をもつ有用な心不全治療薬である。我々は、歯科用レジンをマウスの下顎切歯に装着したマウスモデル (Bite-opening; BO) を用いて「Cpt は咬合不調和により誘発される心機能障害を予防する」という仮説をたて、その検証を試みた。【方法】雄性マウス (C57/BL6), 対照群, BO 群, Cpt 群 (0.1g / L を含む飲料水), BO + Cpt 群の 4 群に分け, BO 処置 2 週後, 心筋を摘出し, 体重, 筋重量, 心エコーにより心機能を調べた。またストレスマーカーである血漿コルチコステロン値を計測した。【結果】BO 群および BO + Cpt 群の体重は BO 処置後減少傾向を示し, BO 処置後 5 日までに, 最大に達した。その後, 両群の体重は徐々に増加したが, BO 処置前の体重には達しなかった。心肥大の程度 (心筋重量 (mg) / 脛骨長 (mm)) は, 4 群間で有意差が観察されなかった。ストレスマーカーである血漿コルチコステロン値は, BO 群ならびに BO+ Cpt 群のいずれも対照群と比較して有意に高値を示したが, 両群間に有意差は確認されなかった。すなわち BO によるストレス負荷に Cpt の併用は影響を与えないことを示唆している。心エコーを用いて心機能 (左心室駆出率 (LVEF) と短縮率 (% FS)) を評価したところ, 対照群と比較して BO 群で有意に減少したが, (P < 0.01), Cpt の併用により BO による心機能低下は有意に抑制された。【結論】以上の結果より, BO による心機能障害は RAS の活性化を介して誘発され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。

01-09 Occlusal anomalies reduce cardiac function by the renin-angiotensin system

○Ito A¹, Ohnuki Y², Umeki D¹, Suita K², Ishikawa M³, Yagisawa Y¹, Matsuo I⁴, Hayakawa Y⁵, Tomonari H¹, Okumura S²

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

Occlusal disharmony has been suggested to increase sympathetic nerve activity and increase the onset of cardiac dysfunction. On the other hand, renin-angiotensin system (RAS) inhibitor captopril (Cpt) is most effective for preventing cardiac remodeling in patients with heart failure. We thus hypothesized that Cpt might prevent cardiac dysfunction induced by occlusal disharmony using a bite-opening (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) Cpt (via drinking water containing 0.1g/L), and 4) Cpt + BO. After 2 weeks, we examined cardiac hypertrophy in terms of cardiac muscle mass per tibia length ratio and they were similar among the four groups. Serum corticosterone, a key biomarker for stress, was significantly increased in the BO and BO + Cpt groups compared to the control, but the magnitude of the increase was similar. We next evaluated cardiac function in terms of left ventricular ejection fraction (LVEF) and fractional shortening (%FS) and confirmed that both parameters were significantly decreased in the BO group compared to the control, but Cpt ameliorated the dysfunction. These results suggest that BO-mediated stress might induce cardiac dysfunction through the activation of RAS.

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

01-10 抗ヘルペス薬（ビダラビン）は咬合異常に起因する心機能障害に対して心機能に影響を及ぼすことなく予防効果を示す

○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, 松尾 一郎⁵,
清本 賢一⁵, 角田 通則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「咬合異常に起因する心機能障害に対して、ビダラビンは有用な治療薬になる」という仮説をたて、その検証を試みた。【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）コントロール群、2）BO群、3）ビダラビン投与群（15mg/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、アポトーシス、酸化ストレスならびにタンパク発現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（左室駆出率 [%EF]；左室内径短縮率 [%FS]）は、コントロール群に比較して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（ $P < 0.05$ ）。2）心臓線維化領域の割合（Masson-trichrome staining）、アポトーシス陽性心筋細胞（TUNEL staining）、酸化ストレス陽性（8-OHdG）免疫染色陽性心筋細胞ならびにアポトーシスを促進するBaxタンパク発現の割合はBO群ではコントロール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（ $P < 0.05$ ）。【結語】咬合異常により惹起された心機能障害に対して心臓型アデニル酸シクラーゼは有用な治療標的にな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。

01-10 Vidarabine, an anti-Herpes agent, prevents cardiac dysfunction caused by occlusal disharmony without adverse effect on heart function in mice

○Hayakawa Y¹, Ohnuki Y², Suita K², Ishikawa M³, Ito A⁴, Matsuo I⁵, Kiyomoto K⁵, Tsunoda M⁵,
Kawahara H¹, Okumura S²

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

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, 2) BO, 3) Vidarabine, and 4) BO+Vidarabine. We first examined the effects of BO on cardiac function by echocardiography and found that it was significantly smaller in BO-group, compared to the Control. We next examined the effects of BO on cardiac fibrosis (Masson-trichrome staining), cardiac myocyte apoptosis (TUNEL staining), cardiac myocyte oxidative stress (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine immunostaining) and its underlying mechanism. We found that cardiac fibrosis area, TUNEL positive myocyte, 8OH-dG positive myocyte, in addition to the expression of Bax, an accelerator of apoptosis were significantly greater, compared to the Control. More importantly, these increases were ameliorated by the co-treatment of Vidarabine. These data indicated that type 5 AC might be a useful therapeutic target for the treatment of cardiovascular diseases induced by oral stress such as occlusal abnormality.

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

01-11 *Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS の慢性投与下におけるβ- アドレナリン受容体シグナルを介した心機能低下に対する影響

○松尾 一郎¹, 吹田 憲治², 早川 佳男³, 清本 賢一¹, 角田 通則¹, 伊藤 愛子⁴, 石川 美紗緒⁵, 大貫 芳樹², 五味 一博¹, 奥村 敏²

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

【目的】 歯周病は交感神経系を活性化させ心疾患発症を促進する事が報告されている。しかしながらその分子レベルでのメカニズムの解析は不十分である。本研究では歯周病患者の血液中に検出される同濃度 *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「PG-LPS の慢性・持続的刺激は交感神経系の慢性刺激状態を引き起こし心機能低下（心筋リモデリング）を誘導する」という仮説を立てその検証を行った。【方法】 C57BL/6/J マウス（オス 12 週令）を用いて、1) PBS 投与群（Control 群）2) PG-LPS (0.8mg/kg/day：腹腔内投与) 投与群（LPS 群）3) 非選択的ベータ遮断薬（プロプラノロール）投与（1g/L：経口投与：PPL 群）4) LPS と PPL の併用投与群（PPL+ LPS 群）を作成。投与開始 7 日後に吸入麻酔下で心エコーを用い心機能測定を行った。実験終了後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 LPS 投与群での心機能は有意に低値を示した。しかしながら PPL を併用した群では心機能の低下が有意に抑制された。2) 心筋線維化領域（Masson-trichrome 染色）ならびに線維化マーカーである A-SMA は LPS 群では有意に増加したが、PPL+LPS 群で有意に抑制された。3) 心筋アポトーシス陽性細胞率（TUNEL 染色）、アポトーシスマーカーである BAX は LPS 群では有意に増加したが PPL+LPS 群で有意に抑制された。4) 心筋細胞内の筋小胞体での Ca²⁺ 調節に重要なホスホランパン（Thr-17・Ser-16）、リアノジン受容体（Ser-2814・2808）のリノ酸化は 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-LPS の投与による心機能障害はベータ遮断薬の併用投与により保護された。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し、心筋リモデリングを誘発する可能性を示唆している。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

01-11 The chronic administration of *Porphyromonas gingivalis*-LPS effects cardiac dysfunction by activating beta-adrenergic receptors signaling

○Matsuo I¹, Suita K², Hayakawa Y³, Kiyomoto K¹, Tsunoda M¹, Ito A⁴, Ishikawa M⁵, Ohnuki Y², Gomi K¹, Okumura S²

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

Periodontitis was recently demonstrated to induce activation of sympathetic nerve activity and thus cardiovascular disease might be susceptible in periodontitis patients from clinical studies. However, the mechanism has not been clearly understood. The aim of the present study was to investigate the effects of lipopolysaccharide derived from *Porphyromonas gingivalis* (PG-LPS) at a dose equivalent to the circulating levels in periodontitis patients on cardiac function in mice, together with the underlying mechanisms. Mice were divided into 4 groups: 1) Control, 2) PG-LPS (0.8mg/kg/day ip for 7 days), 3) non-selective β-blocker propranolol, (PPL) (via the drinking water containing 1g/L), and 4) PPL+PG LPS. We first examined cardiac function by echocardiography and found that cardiac function was significantly decreased by the treatment of PG-LPS, but propranolol ameliorated the dysfunction. Cardiac fibrosis (Masson-trichrome staining) and myocyte apoptosis (TUNEL staining) were significantly increased by the treatment of PG-LPS, but propranolol blocked these changes. The PG-LPS-induced cardiac dysfunction was associated with increased phospholamban phosphorylation at threonine-17 and serine-16, as well as ryanodine receptor 2 phosphorylation at serine-2808 and serine-2814. Importantly, propranolol again blocked both phosphorylations. These data suggest that chronic PG-LPS infusion might affect cardiac dysfunction via activation of the sympathetic nervous system.

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

02-01 *Porphyromonas gingivalis* の Fim 線毛の形成機構

○庄子 幹郎, 中山 浩次, 内藤 真理子

長大 院医歯薬 微生物

【目的】 歯周病関連細菌 *P. gingivalis* は付着因子として線毛を有している。本菌の主要な線毛である Fim 線毛は主要構成タンパク質 FimA の重合により形成される。我々は、FimA などの線毛関連タンパク質がリポタンパク質として菌体表面に分泌され、その後、菌体表面にある Rgp プロテアーゼにより N 末端側の限定分解が起こり線毛タンパク質の重合が起きることを報告していた。さらに、W83 株由来プロ型 FimA (Type IV) の X 線結晶構造の解析結果より、線毛の重合は FimA の C 末端側の構造変換が関わるというモデルを提唱していた。今回、結合機構を解明するため in vitro での FimA 重合産物の可視化を行った。

【方法】 大腸菌を用いて組換えプロ型 FimA タンパク質 (33277 株由来) を精製した。一方、*P. gingivalis* より RgpB を精製した。それぞれを試験管内で反応させ、FimA タンパク質のみによる重合産物を調製した。その重合産物の詳細をクライオ電子顕微鏡解析により明らかにした。また、33277 株 (Type I) および TDC60 株 (Type II) 由来のプロ型 FimA タンパク質について、X 線結晶構造解析によりそれらの構造を明らかにした。

【結果と考察】 FimA タンパク質のみによる重合産物をクライオ電子顕微鏡解析により明らかにした (解像度 3.6 Å)。線毛の重合は予測していたように C 末端側がリンカーであった。また、33277 株および TDC60 株由来のプロ型 FimA タンパク質についての X 線結晶構造解析結果は、これまで報告していた W83 株由来のものと同様であり閉鎖型であった。これらの結果から、線毛の重合は、菌体表面にて Rgp が FimA の N 末端側を限定分解し、その後、FimA の C 末端側が構造変換して起きることが解明された。

【会員外共同研究者】 柴田敏史, Matthias Wolf (沖縄科技大), 今田勝巳 (阪大)

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

02-01 Synthesis mechanism of *Porphyromonas gingivalis* Fim pili

○Shoji M, Nakayama K, Naito M

Dept Microbiol Oral Infect, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ

Purpose: *P. gingivalis* Fim pili are mainly composed of FimA pilin. FimA pilin is secreted as a lipoprotein onto the cell surface, followed by cleavage of the N-terminal region of FimA by Rgp proteases, resulting in pilus polymerization. In our previous study, we proposed a model in which a conformational change of the C-terminal region of FimA mediates the polymerization of pilins, which was based on the structure of the pro-FimA (Type IV) from strain W83. In this study, we performed visualization of FimA polymer to elucidate synthesis mechanism of Fim pili.

Materials & Methods: A recombinant pro-FimA (from strain 33277) purified from *E. coli* was treated with an RgpB protease purified from *P. gingivalis*, resulting in generation of FimA polymer. The details of the polymer were investigated by Cryo-electron microscopy. We also determined the structures of the pro-FimA proteins from strains 33277 (type I) and TDC60 (type II) by X-ray crystallography.

Results & Conclusion: Cryo-electron microscopy revealed the structure of FimA polymer (resolution 3.6 angstrom). As we predicted, the C-terminal region of FimA was a linker. Structures of the pro-FimA proteins of types I and II were similar to that of type IV. These results revealed the synthesis mechanism of Fim pili.

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

02-02 クワ葉抽出物に含まれる天然物化合物の口腔微生物への抗菌性

白井 尊久¹, ○佐藤 祐太郎², 石原 和幸³

¹奥羽大 歯, ²関東労災病院 歯科口腔外科, ³東歯大 微生物

【目的】クワ (*Morus sp.*) 葉の抽出成分は, 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, クワ葉の抽出と精製をおこない, 抽出物及び精製物の口腔微生物に対する抗菌活性を測定した。

【方法】クワ葉 (東京農工大学より提供) を氷結破碎し, アセトンを用いて抽出した。抽出液からアセトン除去したのち, 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クロマトグラフィーを用いてヘキサン-アセトン繰り返し精製分離した。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に対してそれぞれの段階で, *Porphyromonas gingivalis* に対する minimum inhibitory concentration を測定した。

【結果】抽出物の *Porphyromonas gingivalis* に対する minimum inhibitory concentration は $\leq 125 \mu\text{g/mL}$ であった。最終的な精製物の *Porphyromonas gingivalis* に対する minimum inhibitory concentration 値は, 最も活性の高いもので $6.25 \mu\text{g/mL}$ あった。

【考察】クワ葉抽出物には *Porphyromonas gingivalis* に対する抗菌活性物質が含まれると考えられる。この活性物質はシリカゲルオープンカラム クロマトグラフィを通じて精製することが可能である事が示された。今後の研究課題としてこの活性の本体の構造を同定することが挙げられる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

02-02 The anti-bacterial activity of natural products contained in mulberry leaf extract to oral microorganisms

Shirai T¹, ○Sato Y², Ishihara K³

¹Sch Dent, Ohu Univ; ²Dept Oral Maxillofac Surg, Kanto Rosai Hospital; ³Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll

Purpose: The extract of mulberry (*Morus sp.*) leaves has been reported to have antibacterial activity against several pathogenic microorganisms. In this study, the antibacterial activity of the mulberry leaf extract, and the partially purified fractions against oral microorganisms was measured.

Method: Mulberry leaves (provided by Tokyo University of Agriculture and Technology) were mashed and extracted with acetone. After removing acetone, the oil-water separation was performed using ethyl acetate. The oil layer was collected and evaporated. The obtained extract was repeatedly purified using silica gel open column chromatography. The separated fractions were analyzed by TLC. MICs against *Porphyromonas gingivalis* of the extract and partially purified fractions were measured for at each step.

Results: The MIC of the extract against *P. gingivalis* was $\leq 125 \mu\text{g/mL}$. The MIC value of *P. gingivalis*, which was the partially purified product, was $6.25 \mu\text{g/mL}$, which was the highest activity among all fractions.

Discussion: Mulberry leaf extract is considered to contain antibacterial substances against *P. gingivalis*. This substance could be partially purified through the open column chromatography. A future research topic is to identify the structure of this activity.

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

02-03 飲酒を想定した中から高濃度エタノール環境下における *Streptococcus* 属によるアセトアルデヒド産生

○互野 亮^{1,3}, 鷲尾 純平², 佐々木 啓一³, 高橋 信博²

¹東北大 病院 顎顔面口腔再建治療部, ²東北大 院歯 口腔生化, ³東北大 院歯 口腔システム補綴

【目的】 飲酒は口腔がん発生のリスク因子であり, エタノール (Eth) から口腔内細菌により産生されるアセトアルデヒド (ACT) が原因と考えられる. 口腔内 Eth 濃度は飲酒直後の高濃度から, ヒトのアルコール代謝や唾液の流れにより徐々に減少する. そのため, 実際の飲酒では口腔内 Eth 濃度は中から高濃度の繰り返しが生じることが想定される. 中から高濃度の Eth 環境下において, 口腔内細菌の死滅や代謝能, 増殖能が変化し, ACT 産生量の増減が考えられるが, 検証されていない. そこで, 中から高濃度 Eth 環境下における *Streptococcus* 属の ACT 産生量の変化やその特徴を検討した.

【方法】 実験には *Streptococcus mitis*, *S. salivarius*, *S. gordonii*, *S. mutans*, *S. sanguinis* を用いた. 各細菌を大気下に静置し培養, 対数増殖期に集菌し, 菌懸濁液の調整を行った. 試験管に菌懸濁液, Eth (最終濃度 0 から 10000 mM), リン酸緩衝溶液 (pH 7) を入れ密封し, 30 分間 37 度で反応後の気相中 ACT 濃度をセンサガスクロマトグラフィーにて測定した. 反応後の細菌の生存を寒天培地にて確認した.

【結果】 全ての菌株で Eth 濃度の増加に伴い ACT 産生量が増加し, Eth 濃度 1000-2000 mM にて最大となり, 5000, 10000 mM では減少した. また, 反応後の細菌は Eth 濃度が 0-2000 mM では生存, 5000, 10000 mM で 100% 死滅した. ACT 産生量は *S. mitis* が最大で, *S. salivarius*, *S. gordonii* が *S. mitis* の 1/2 程度, *S. mutans* は 1/4 程度, *S. sanguinis* は 1/6 程度であった.

【考察】 Eth 濃度の 1000-2000 mM は約 5-9% で, 飲酒中に口腔内で想定される濃度であり, 飲酒程度の Eth 濃度では口腔内細菌は死滅せず, 多量の ACT を産生した. さらに, 先行研究で ACT 産生能が低いとされた *S. mutans* や *S. sanguinis* も Eth 濃度の増加により多量に ACT を産生した. すなわち, 口腔内細菌の種類や量のみならず, 飲酒時のような高い濃度の Eth が維持される飲酒環境や習慣が, 口腔内 ACT 量を増加させ, 発がんリスクを上げる要因となると考えられる.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

02-03 Acetaldehyde production by *Streptococcus* species in medium to high concentration ethanol

○Tagaino R^{1,3}, Washio J², Sasaki K³, Takahashi N²

¹Maxillofac Prosthet Clin, Tohoku Univ Hosp; ²Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ³Div Adv Prosthet Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Introduction: Heavy alcohol drinking and acetaldehyde produced by oral bacteria are considered to relate with oral cancer. The ethanol concentration in oral cavity during alcohol drinking is expected to be medium to high. Therefore, we investigated a characteristic of acetaldehyde production by *Streptococcus* species under medium to high ethanol concentration.

Materials and Methods: *Streptococcus mitis*, *salivarius*, *gordonii*, *mutans* and *sanguinis* were used. These bacterial cell suspensions were incubated with ethanol (final concentration 0-10000 mM) under pH 7, and then the acetaldehyde production was measured by sensor gas chromatography.

Results: As ethanol concentration increased Acetaldehyde productions also increased and reached maximum at 1000-2000 mM ethanol in all stains. The acetaldehyde production by *S. mitis* was the highest, followed by *S. salivarius*, *S. gordonii*, *S. mutans* and *S. sanguinis*.

Discussion: 1,000-2,000 mM ethanol was assumed the concentration in oral cavity during alcohol drinking. *S. mutans* and *S. sanguinis* was a little producer of acetaldehyde in previous our study, but they could produce a lot of acetaldehyde under high concentration of ethanol. Therefore, it is considered that the drinking habit, which keeps a high ethanol concentration in oral cavity, increase the risk of oral cancer.

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

02-04 *Candida albicans* の DMBT1 への結合機序の解明

○瀬戸口 大介, 於保 孝彦

鹿大 院医歯 予防歯

【目的】 DMBT1 は唾液凝集素や gp-340 としても知られる高分子糖タンパク質で, 様々な組織, 外分泌液中に存在する先天性免疫因子である. 今回, 口腔カンジダ菌の 1 つである *Candida albicans* の DMBT1 への結合機序について調べた.

【方法】 用いた菌株は *C. albicans* NBRC 1385 (NITE, 木更津市) であり, サブロー培地で 37℃ にて 18 時間好氣的に培養した後, PBS (pH 7.0) に懸濁した. DMBT1 は Oho ら (1998) の方法に準拠して, ヒト唾液から精製した. *C. albicans* NBRC 1385 の DMBT1 への結合は, 菌体をビオチン化し ELISA 法を用いて調べた. この結合に及ぼす 2 価陽イオン (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+}) と pH (4-9) の影響を調べた. また, DMBT1 の構成糖および *C. albicans* 表層に存在する糖を用いて結合抑制実験を行い, 結合に関与する糖を調べた. さらに DMBT1 のペプチドドメインである各 SRCRP への結合を調べた.

【結果】 *C. albicans* NBRC 1385 は DMBT1 へ結合することが認められ, その反応は菌数依存性であった. 2 価陽イオンのうち Ca^{2+} , Mg^{2+} を添加した場合, 菌体は対照 (無添加) と比較して DMBT1 へより強く結合することが認められた. pH の影響については pH 7 の場合と比較して, pH 8-9 では有意に結合が上昇した. また, 糖による結合抑制実験では, 反応系にマンノースを添加した場合, 菌体の DMBT1 への結合は対照と比較して有意に低下した. さらに菌体は DMBT1 のペプチドドメインの中で SRCRP2 へ強く結合することが認められ, その反応はマンノースによって抑制された.

【考察】 本研究より, *C. albicans* は菌体表層に存在するマンノースを介して DMBT1 の SRCRP2 へ結合し, その反応には Ca^{2+} が関与することが示唆された.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

02-04 Binding mechanism of *Candida albicans* to DMBT1

○Setoguchi D, Oho T

Dept Prevent Dent, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

Purpose: DMBT1, also known as salivary agglutinin or gp-340, is an innate immune factor present in various tissues and exocrine fluids. We investigated the binding mechanism of *Candida albicans* to DMBT1.

Methods: *C. albicans* NBRC 1385 was aerobically cultured in Sabouraud medium, and the cells were suspended in PBS. DMBT1 was purified from human saliva. Biotinylated *Candida* cells were used to examine the binding to DMBT1 by ELISA. The effects of divalent cations and pH on the binding were investigated. Constituent sugars of DMBT1 or cell surface sugars of *C. albicans* were used for binding inhibition experiments. Furthermore, the binding of *Candida* cells to peptide domains of DMBT1 was examined.

Results: *C. albicans* NBRC 1385 bound to DMBT1 in a cell-number dependent manner. Ca^{2+} and Mg^{2+} enhanced the binding compared with the control (no addition), and the binding increased at pH 8-9 compared to pH 7. Mannose significantly inhibited the binding compared with the control. Furthermore, *Candida* cells strongly bound to SRCRP2 domain and the reaction was inhibited by mannose.

Discussion: The results suggest that *C. albicans* binds to SRCRP2 domain within DMBT1 via mannose moiety present on the cell surface of *Candida*, and Ca^{2+} is involved in the reaction.

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

02-05 肺および口腔上皮細胞における *Porphyromonas gingivalis* 由来の細胞外小胞の障害性

○山口 真輝¹, 塩津 範子², 竹本 史子³, 福原 瑤子⁴, 池亀 美華⁴, 吉田 賀弥⁵, 上岡 寛³, 鳥井 康弘², 佐々木 朗¹, 岡村 裕彦⁴

¹岡大 院医歯薬 口腔顎顔面外科, ²岡大 病院 総合歯科, ³岡大 院医歯薬 矯正, ⁴岡大 院医歯薬 口腔形態, ⁵徳大 院医歯薬 口腔保健教育

【緒言】 歯周病原菌である *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) 菌は、菌固有の病原因子を豊富に含んだ細胞外小胞 (outer membrane vesicles: OMVs) を放出する。近年、*Pg* OMVs が肝臓を含む遠隔臓器に到達し、様々な全身性疾患に関与することが示唆されている。しかしながら、*Pg* OMVs が肺や口腔の上皮細胞にどのような影響を及ぼすかについては不明な点が多い。今回、上皮細胞の活性やアポトーシスに関連する蛋白に対する *Pg* OMVs の影響について解析した

【方法】 培養した *Pg* 菌 (ATCC33277 株) の上清からポリマー沈殿法により OMVs を回収した。回収した *Pg* OMVs の形態と粒子径を電子顕微鏡で解析した。肺上皮細胞 (A594) および口腔上皮細胞 (FOEC-6) に様々な濃度の *Pg* OMVs を添加し、細胞活性を調べた。またアポトーシス関連因子である caspase-3 および poly ADP ribose polymerase (PARP) の発現をウェスタンブロット法により解析した。

【結果】 *Pg* 菌は、培養上清中に菌体外膜により形成された約 40nm の OMVs を放出した。*Pg* OMVs は、濃度依存的に上皮細胞の細胞活性を低下させた。さらに、*Pg* OMVs は、caspase-3 の活性化と PARP の断片化を誘導した。

【考察】 本結果から、*Pg* OMVs は上皮細胞において細胞死を誘導することが示唆された。今後は、上皮細胞内への *Pg* OMVs の侵入様式や細胞障害を与えるメカニズムについて、菌固有のタンパク質分解酵素 gingipain に着目して解析する予定である。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

02-05 The effect of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles on lung and oral epithelial cells

○Yamaguchi M¹, Shiotsu N², Takemoto F³, Uchida-Fukuhara Y⁴, Ikegame M⁴, Yoshida K⁵, Kamioka H³, Torii Y², Sasaki A¹, Okamura H⁴

¹Dept Oral Maxillofac Surg Biopathol, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ²Compr Dent Clinic, Okayama Univ Hosp; ³Dept Orthodont, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ⁴Dept Oral Morphol, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ⁵Dept Oral Health Care Educ, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

Porphyromonas gingivalis (*Pg*), a major bacterium for the progression of periodontal disease have been revealed to be a risk factor for the development of systemic diseases by producing outer membrane vesicles (OMVs). However, little is known about the effect of OMVs on cell viability and epithelial barrier system. In this study, we investigated the cytotoxic effect of *Pg* OMVs on lung and oral epithelial cells. OMVs collected from the supernatant of cultured *Pg* were morphologically analyzed by an electron microscope. *Pg* OMVs consist of lipid bilayer and include a wide variety of pathogens such as gingipains, which are derived from *Pg*. Human lung epithelial A549 cells and oral epithelial FOEC-6 cells were treated with *Pg* OMVs. *Pg* OMVs decreased cell viability in both cells in a time-dependent manner. Western blot analysis showed that the expressions of apoptotic marker proteins, cleaved caspase-3, and cleaved poly ADP-ribose polymerase (PARP) were increased after the treatment with *Pg* OMVs. These results indicate that *Pg* OMVs may lead cell death in epithelial cells.

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

02-06 細菌感染による母体の IL-17A が仔の脳神経発達メカニズムに与える影響について

○根来 (安松) 香奈江^{1,2}, 永尾 潤一^{1,3}, 有田 (森岡) 健一^{1,3}, 成田 由香^{1,3}, 田崎 園子¹, 城戸 寛史², 田中 芳彦^{1,3}

¹福歯大 感染生物, ²福歯大 インプラント, ³福歯大 口腔医学研究セ

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る。近年、母体の感染によって引き起こされる母体免疫活性化 (MIA) が自閉スペクトラム症 (ASD) 発症に関与していることが明らかになった。さらにその分子実体は母体のヘルパー T 細胞 Th17 が産生するサイトカイン IL-17A であることが示された。細菌感染を模倣したモデルでも、その仔マウスにおいて行動異常を示すことが明らかにされているが、詳しい発症の機序はよく分かっていなかった。

本研究では、細菌感染による MIA モデルの分子実体と仔の脳神経発達異常のメカニズムを解明することを目的とする。胎生 14 日目の妊娠 C57BL/6 マウスに大腸菌由来リポ多糖 (*E. coli* LPS) を腹腔内投与し (0.05 μ g/g-マウス), 細菌感染を模倣した MIA マウスモデルを構築した。E. coli LPS 投与により母体血中の IL-6 と IL-17A の上昇および ultrasonic vocalizations, marble-burying test, social approach test といった行動試験による仔マウスの自閉症様の行動異常を見出した。フローサイトメトリー解析により、母体の IL-17A 産生細胞を明らかにし、また qRT-PCR 解析により母体の子宮において IL-17A の発現上昇、および仔の脳において IL-17 受容体の発現上昇を認めた。さらに IL-17A 中和抗体の投与により、仔マウスの自閉症様の行動異常が改善された。

以上のことから、細菌感染により応答する母体の IL-17A が MIA モデルの分子実体であり、仔マウスの自閉症様行動異常を誘導することが示された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

02-06 Maternal IL-17A caused by the bacterial infection affected on fetal brain system development

○Negoro-Yasumatsu K^{1,2}, Nagao J^{1,3}, Arita-Morioka K^{1,3}, Narita Y^{1,3}, Tasaki S¹, Kido H², Tanaka Y^{1,3}

¹Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll; ²Div Oral Implantol, Fukuoka Dent Coll; ³Oral Med Res Center, 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 molecular entity of MIA caused by a bacterial infection and the influence of MIA 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 IL-6 and IL-17A 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 development.

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

02-07 緑膿菌における抗菌薬抵抗性関連遺伝子の探索

○Pahlevi Muhammad, 村上 圭史, 藤猪 英樹

徳大 院医歯薬 口腔微生物

02-07 Screening for antibiotic tolerance related genes of *Pseudomonas aeruginosa*

○Pahlevi M, Murakami K, Fujii H

Dept Oral Microbiol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

Purpose: *Pseudomonas aeruginosa* is a serious threat to human especially to immune compromised patient and it is a common cause of nosocomial infection. *P. aeruginosa* infection is difficult to eradicate because of its tolerance against antibiotic treatment. Antibiotic tolerance is the ability of bacteria to survive but not grow in the presence of antibiotics above the minimum inhibitory concentration. We previously demonstrated that the new compound, autoinducer analog-1 (AIA-1) enhanced the antibacterial activity of antibiotics without affecting antibiotic susceptibility of *P. aeruginosa*, however, the mechanisms of AIA-1 is still unclear. (Amoh et al, J. Antimicrob. Chemother. 72, 2230-2240, 2017) The aim of this study was to investigate the mechanisms of AIA-1 in decreasing antibiotic tolerance.

Materials and Methods: In this study, we constructed the transposon mutagenesis library by mating wild type *P. aeruginosa* (PAO1) with *Escherichia coli* S17-1- λ pir harboring pUT-miniTn5pro. Killing assays were performed by using mutants with biapenem or combination of biapenem and AIA-1. Mutants which exhibited high antibiotic tolerance in spite of the presence of AIA-1 were selected. To determine the transposon insertion sites, genomic DNA was purified, digested by restriction enzyme, self-ligation, and then transformed to *Escherichia coli* JM109- λ pir. Plasmids were isolated and the DNA was sequenced using primers that anneal to the transposon and chromosome transposition junction.

Results and Discussion: Among more than 3700 Transposon mutants, 6 mutants which exhibited high antibiotic tolerance in the presence of AIA-1 and biapenem, and 6 genes linked to this tolerance were identified by sequencing. Two obtained genes produce hypothetical proteins which functions and pathways yet to be elucidated while four other obtained genes have their own respective functions. Those four are related to metabolism and efflux membrane transporter activity. These genes had critical role in elucidating the mechanisms of AIA-1 in decreasing antibiotic tolerance of *P. aeruginosa*.

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

02-08 免疫チェックポイント分子 PD-L1 の歯肉過剰発現は、早期および慢性の歯肉炎症を抑制する

○Wongtim Keeratika¹, 永井 重徳¹, 奥原 滋², 東 みゆき¹

¹医科歯科大 院医歯 分子免疫, ²医科歯科大 院医歯 分子発生

02-08 Gingival keratinocyte-associated immune checkpoint PD-L1 inhibits periodontal inflammation

○Wongtim K¹, Nagai S¹, Okuhara S², Azuma M¹

¹Dept Mol Immunol, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ; ²Dept Mol Craniofac Embryol, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ

Purpose: The PD-1:PD-L1 (B7-H1) immune checkpoint pathway negatively regulates multiple T cell-mediated immune responses. We previously generated K14/PD-L1 transgenic mice (K14/PD-L1tg) in which PD-L1 is overexpressed in epithelial keratinocytes, and demonstrated that keratinocyte-associated PD-L1 inhibited a murine model of contact hypersensitivity mediated by CD8+ T cells (J Immunol, 2010) and oral mucosal tissue inflammation mediated by CD4+ T cells (Mucosal Immunol, 2016). In this study, to investigate the roles of gingival keratinocyte-associated PD-L1 in periodontal inflammation, we compared early and late time points of gingival/periodontal inflammation between wild type and K14/PD-L1tg mice.

Materials & Methods: To induce gingivitis/periodontitis, wild type (wt) BALB/c and K14/B7-H1tg mice received a 9.0-silk ligature placement at the right side of gingival sulcus of the secondary maxillary molars. P.g-LPS was applied in the both sides of molars. Inflammatory responses were evaluated after 7 days or 7 weeks. Histological examination by H&E staining and inflammatory cytokine expression by real-time PCR were performed to examine early responses (after 7 days), and alveolar bone loss assessed by micro-CT and osteoclast formation assessed by TRAP staining were evaluated to examine late responses (after 7 weeks).

Results: At day 7, the numbers of neutrophils and lymphocytes in the lamina propria region under the sulcular epithelium were lower in the ligature/LPS side of K14/PD-L1tg mice. mRNA expression of IL-1b and IL-6 in the gingival tissues of wt mice was markedly increased by ligature/LPS treatment, but not by LPS alone. In the ligature/LPS-treated K14/PD-L1tg mice, these cytokine expressions were not increased. At 7 weeks, in the ligature/LPS-treated side of wt mice, the arrangement of periodontal ligaments was highly disturbed, and the higher osteoclast formation and alveolar bone resorption were observed as compared with K14/PD-L1tg mice.

Conclusion: Overexpression of PD-L1 in gingival keratinocytes inhibited the induction of earlier and late phases of gingival/periodontal inflammation. Our results suggest that gingival keratinocyte-associated PD-L1 plays a protective role for development of gingivitis and periodontitis.

Non-member collaborators: Keitetsu Kure, Ikeda Eri

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

02-09 Binding and functional properties of VSIG4 (V-set and Ig domain containing 4) -Ig fusion protein

○Widyagarini Amrita, 永井 重徳, 東 みゆき

医科歯科大 院医歯 分子免疫

02-09 Binding and functional properties of VSIG4 (V-set and Ig domain containing 4) -Ig fusion protein

○Widyagarini A, Nagai S, Azuma M

Dept Mol Immunol, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ

Purpose: Inhibitory co-signal molecules, recently called immune checkpoint molecules, play crucial roles for maintenance of homeostasis and induction of tolerance. Most of ligands for immune checkpoint receptor are member of B7 family molecules. Immune checkpoint receptors expressed on T cells fine-tune T cell-mediated immune responses at the multiple phases in the peripheral and secondary lymphoid tissues. V-set and immunoglobulin domain containing 4 (VSIG4) is a new B7-family co-inhibitory molecule that is a negative regulator of T-cell activation and its expression is limited in some conditions of tissue macrophages and tumor cells. We have recently reported that VSIG4 was upregulated on CD206+ macrophage-like cells appeared in the sublingual tissue after repeated antigen painting. CD206+ cells seem to be involved in tolerance induction in the sublingual immunotherapy. A counter-receptor for VSIG4 has not been identified yet. In this study, to investigate a counter receptor for VSIG4, we examined binding and functional properties of VSIG4-Ig fusion protein by targeting T cell immune responses.

Materials and methods: VSIG4-Ig fusion protein consisting an extracellular domain of mouse VSIG4 and the Fc region of human IgG1 was constructed and purified. Binding of VSIG4-Ig to naive, activated, primed resting, and reactivated CD4+ and CD8+ T cells were analysed by flow cytometry. For T-cell functional assay, purified T cells were stimulated by plate-coated anti-CD3 mAb or together with anti-CD28 mAb in the presence or absence of VSIG4-Ig or control Ig. Cell division and cytokine (IL-2 and IFN-g) production after 3-day culture were assessed by flow cytometry and ELISA, respectively.

Results and Conclusion: mVSIG4-Ig did not clearly bind to naive and activated T cells, but its binding increased against re-activated T cells. The addition of VSIG4-Ig in the T cell culture inhibited cell division of both CD4+ and CD8+ T cells stimulated with anti-CD3 mAb alone or in combination with anti-CD28 mAb. In the similar cultures, VSIG4-Ig showed inhibitory effects on IL-2 production by CD4+ T cells and on IFN-g production by CD8+ T cells. These results suggest that a counter receptor for VSIG4 may exist on re-activated, late stage of T cells, but not on naive and early activated T cells, and negatively regulate T cell activation.

Non-member collaborator: Yohei Kawano (Dept Immunology, Hiroshima Univ)

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

03-01 エナメル芽細胞と象牙芽細胞を蛍光標識できる *Amelx*-tdTomato ノックインマウス及び *Dspp*-GFP ノックインマウスの歯のマイクロ CT 解析

○磯野 加奈, 山崎 英俊

三重大 院医 幹細胞発生

歯上皮細胞は AMELX 等を発現するエナメル芽細胞に, 一方で歯間葉細胞は Dentin sialophosphoprotein (DSPP) 等を発現する象牙芽細胞に分化することが知られている. これまで, 我々はエナメル芽細胞や象牙芽細胞を蛍光を指標に同定・単離する目的でエナメル芽細胞特異的遺伝子の一つである *Amelx*, 象牙芽細胞特異的遺伝子の一つである *Dspp* の各遺伝子座に赤色或は緑色蛍光蛋白遺伝子を挿入した胚性幹細胞株を作製し, さらに遺伝子組換えマウスを作製し, 蛍光タンパクを指標にエナメル芽細胞或は象牙芽細胞を同定した. また, *Amelx*^{tdTomato/+} と *Dspp*^{GFP/+} の二重遺伝子組み換えマウスを用いてエナメル芽細胞と象牙芽細胞が同一個体で別蛍光で簡単に区別・標識できることを報告した. これまで *Dspp* 遺伝子欠損マウス, *Amelx* 遺伝子欠損マウスでは象牙質やエナメル質の形成異常の報告がされているが, 今回我々は, マイクロ CT を用いてこれらの遺伝子欠損マウスのエナメル質や象牙質の異常を調べた. *Amelx*^{tdTomato/+} オスマウスでは, 正常マウスに比べて, エナメル質の減少と正常の象牙質よりやや硬い象牙質が増加していることが分かった. 一方, *Dspp*^{GFP/GFP} マウスでは, 正常マウスに比べて, エナメル質の量や硬さにあまり影響を認めなかったが, 象牙質の硬さと象牙質の量が少し減少していることが判明した. さらに, *Amelx* 遺伝子及び *Dspp* 遺伝子を両方欠損する *Dspp*^{GFP/GFP}; *Amelx*^{tdTomato/+} オスマウスを作成し, エナメル質や象牙質への影響について調べたので報告したい.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

03-01 Micro-CT analysis of teeth of *Amelx*-tdTomato Knock-In mice and *Dspp*-GFP Knock-In mice that label ameloblasts and odontoblasts as fluorescent cells

○Isono K, Yamazaki H

Dept Stem Cell Dev Biol, Mie Univ Grad Sch Med

Dental epithelial cells differentiate into enamel-producing ameloblasts that express *Amelogenin* (*Amelx*), whereas dental mesenchymal cells differentiate into dentin-producing odontoblasts, that express *Dentin sialophosphoprotein* (*Dspp*). Previously, we established *Amelx*-tdTomato Knock-In (*Amelx*^{tdTomato/+}) mice and *Dspp*-GFP Knock-In (*Dspp*^{GFP/+}) mice to identify enamel-producing cells and dentin-producing cells as tdTomato-expressing cells and GFP-expressing cells, respectively. In this study, we examined the abnormality of enamel formation and dentin formation in *Dspp*^{GFP/GFP} mice and *Amelx*^{tdTomato/+} male mice using micro-CT, although it was reported that *Dspp* or *Amelx* knock out mice showed abnormality of teeth development including dentin and enamel formation. Interestingly, compared to wild-type mice, reduction of enamel matrix and increasing of dentin volume and dentin mineral density was observed in *Amelx*^{tdTomato/+} male mice. On the other hands, compared to wild-type mice, reduction of dentin volume and dentin mineral density was observed in *Dspp*^{GFP/GFP} mice. Furthermore, we examined that the abnormality of the dentin and enamel of *Dspp*^{GFP/GFP}; *Amelx*^{tdTomato/+} male mice.

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

03-02 p130Cas のエナメル質形成過程における役割

○井上 茜¹, 高 靖¹, 吉崎 恵悟², 進 正史³, 中富 千尋⁴, 中富 満城⁵, 岡部 幸司³,
大島 勇人⁶, 高橋 一郎², 自見 英治郎¹

¹九大 院歯 口腔細胞工学, ²九大 院歯 矯正, ³福歯大 細胞生理, ⁴九歯大 生理, ⁵九歯大 解剖,
⁶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, エナメル芽細胞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ため, EPMA 解析及び EDX でエナメル質のイオンの量を測定したところ, 野生型と比較して Ca が少ないアパタイトであった. また, 石灰化状態, エナメル質の強度を比較するため, Micro CT 撮像およびビッカース硬さ試験を行った. p130Cas cKO マウスの Micro CT 画像では, 野生型と比べてエナメル質の菲薄化, 歯髄腔の拡大が見られ, エナメル密度も低下し, ビッカース硬さも小さかった. また, 歯原性上皮細胞株である SF 2 細胞において p130Cas をノックダウンするとアクチンの広がりが抑制され, 細胞増殖能, 接着能が低下していた.

【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】 著者は利益相反がないことを宣言する.

03-02 The role of p130Cas in enamel maturation of mice

○Inoue A¹, Gao J¹, Yoshizaki K², Shin M³, Nakatomi C⁴, Nakatomi M⁵, Okabe K³, Ohshima H⁶,
Takahashi I², Jimi E¹

¹Sect Mol Cell Biochem, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Sect Orthod Dentofac Orthop, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ³Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll; ⁴Div Physiol, Kyushu Dent Univ; ⁵Div Anat, Kyushu Dent Univ; ⁶Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ

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 ameloblast. 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 of p130Cas cKO mice were clouded compared with wild-type. EPMA analysis for enamel showed that decreased amount of Ca 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. Moreover, when p130Cas was knocked down in SF2 cells, which is an odontogenic epithelial cell line, the spread of actin was suppressed. In addition, cell proliferation and adhesion abilities were also reduced. In conclusion, p130Cas plays important roles during the maturation process of enamel.

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

03-03 Fam20C の象牙芽細胞特異的過剰発現は象牙質形成を抑制する

○浪花 耕平^{1,2}, 廣瀬 勝俊¹, 宇佐美 悠¹, 白銀 陽一郎¹, 奥村 将^{1,2}, 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。Fam20C によるリン酸化は、硬組織形成において重要な役割を担っていると考えられており、Fam20C 欠失マウスでは歯の形成不全がみられる。しかし、Fam20C 欠失に伴う全身性の低リン血症が硬組織形成に影響するため、硬組織の局所における Fam20C の役割は明らかではない。本研究では、I 型コラーゲンプロモーター (2.3kb) を用いて、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) を作製し、低リン血症の非影響下で、象牙質形成における Fam20C の役割を検討した。

【結果と考察】 Fam20C-Tg では、野生型と比較して、臼歯における *Fam20C* mRNA 発現は約 15 倍高く、Fam20C は象牙芽細胞のゴルジ領域に過剰蓄積していた。Fam20C-Tg の象牙質におけるリン酸化セリンの免疫反応は増強しており、象牙質基質蛋白質のリン酸化亢進が示された。μCT 解析では、Fam20C-Tg の臼歯の象牙質量は有意に減少しており、mineral density も低下していた。形態学的解析でも、象牙質量は有意に減少しており、mineral appositional rate 低下を伴う象牙前質の拡大を認めた。また、象牙芽細胞数は有意に減少し、その丈も減少していた。さらに臼歯の根尖部の象牙質内には、骨細管様構造を有する硬組織が認められ、Runx2 陽性細胞の封入が認められた。遺伝子発現解析では、*Runx2* mRNA の発現は有意に増加していた。以上から、Fam20C によるリン酸化は、象牙質形成および象牙芽細胞分化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。

03-03 Overexpression of Fam20C in odontoblasts leads to decreased dentin formation

○Naniwa K^{1,2}, Hirose K¹, Usami Y¹, Shirogane Y¹, Okumura M^{1,2}, Komori T³, Toyosawa S¹

¹Dept Oral Pathol, Osaka Univ Grad Sch Dent; ²Dept Oral Surg 2, Osaka Univ Grad Sch Dent; ³Dept Cell Biol, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ

Background: Fam20C, which phosphorylates secretory proteins with S-x-E/pS motifs, is highly expressed in mineralized tissues. Therefore, Fam20C-mediated phosphorylation is considered to be critical for local regulation of the mineralized tissues. Previous studies of Fam20C-deficient mice revealed that Fam20C plays important roles in tooth formation and mineralization. However, Fam20C-deficient mice develop hypophosphatemia whose systemic factor masks the local effect of Fam20C in tooth formation; consequently, the local role of Fam20C remains unknown. To elucidate the local role of Fam20C in the dentin, we studied odontoblast-specific Fam20C transgenic (Fam20C-Tg) mice, which have no alteration in serum calcium and phosphate levels.

Results and Discussion: Intensity of phosphoserine immunoreaction in the dentin suggested that Fam20C-Tg mice had more highly phosphorylated proteins in dentin than wild-type (WT) mice. The molar of Fam20C-Tg mice showed decreased dentin volume, decreased mineral appositional rate, and decreased number and height of odontoblasts, compared to WT mice. Moreover, in the root apex of Fam20C-Tg mice, osteodentin-like tissue with inclusion of Runx2-positive cells was observed. RT-PCR showed that *Runx2* mRNA expression was higher in Fam20C-Tg mice than in WT mice although the other dentin-related genes had not changed. These results suggested that Fam20C-mediated phosphorylation regulates dentin formation and odontoblast differentiation.

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

03-04 モンゴル人における歯を用いた年齢推定法の試み

○Tsogtsaikhan Khongorzul^{1,2}, 波田野 悠夏¹, 吉田 貴恵¹, Bimedekhgui Ganzorig³,
Minjuur Tserenbat², Garidkhuu Ariuntuul^{2,4}, 小坂 萌¹, 鈴木 敏彦¹, 佐々木 啓一¹

¹東北大 院歯 歯科法医情報, ²モンゴル国立医科大, ³モンゴル国立法医学研, ⁴国際医療福祉大 院医
公衆衛生

03-04 Age estimation using pulp/tooth area ratio in Mongolian samples

○Tsogtsaikhan K^{1,2}, Hatano Y¹, Yoshida K¹, Bimedekhgui G³, Minjuur T², Garidkhuu A^{2,4},
Kosaka M¹, Suzuki T¹, Sasaki K¹

¹Div Dent Digit Forensics, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ²Grad Sch, Mongolian Natl Univ Med Scis, Mongolia;
³Natl Inst Forensic Sci, Mongolia; ⁴Dept Publ Health, International Univ Health Welfare

Purpose: Age estimation is important aspect in forensic science. In forensic odontology, radiological methods based on the pulp narrowing with secondary dentin formation have been presented in various races. However, no data exist using Mongolian samples and there are no established age estimation method in Mongolia. Therefore, the purpose of this study was to examine the applicability of the pulp/tooth area ratio (PTR) method for age estimation in Mongolian samples using panoramic radiography.

Materials & Methods: Total samples consisted of 271 panoramic radiographs and age ranged between 15 – 62 years old. The images measurements were performed, using ImageJ (Version 1.52, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA). PTR were calculated in the upper and lower canine teeth. Cameriere's method for Canines (2007) was used to calculate estimated age. Kolmogorov-Smirnov test was done to check the probability distribution. The scatter plot distribution of correlation between the actual age and PTR were made for the upper and lower canine teeth groups. Correlation between actual age and PTR was examined using Pearson's correlation coefficient. In addition, linear regression equations were developed to estimate the actual age according to upper and lower canine's PTR and the regression models were calculated. All data were statistically analyzed with SPSS Statistics for Windows (Version 25.0, IBM corp, Armonk, NY, USA).

Results & Conclusion: The Pearson's correlation coefficient between actual age and PTR showed significantly negative correlation in both groups ($r = -0.717$, $p = 0.0001$ for the upper canine and $r = -0.722$, $p = 0.0001$ for the lower canine teeth group). When canines were considered, regression analysis showed the following linear regression equation: Age = $-419.78 \times \text{PTR}$ (upper canine) + 85.45, Age = $-406.51 \times \text{PTR}$ (lower canine) + 83.47, respectively.

This study was the first trial to analyze the relationship between age and PTR in Mongolian samples. It is needed to substitute different data set to the new formula for validation of the accuracy to make it applicable for the Mongolian population.

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

03-05 半導体レーザーを用いた施術ファイバーチップ Initiation 効果を再考する (他の波長への応用の可能性)

○中島 京樹¹, 玉置 孝蔵², 上村 守³, 豊山 洋輔⁴, 前島 健吾⁵

¹鶴大 歯 口内, ²(株) アパタイト, ³大歯大 歯 解剖, ⁴聖母歯科医院, ⁵前島歯科医院

【目的】 Diode レーザーの使用方法には、レーザーチップの Initiation により先端をホットチップ化して使用する方法がある。組織透過性があり、周囲組織への熱影響の拡大が懸念されるため、より効率的に切除する方法の一つである。機器によっては、チップ先端温度を独自のセンサー技術で調整するため、チップ先端の温度状況に合わせて、出力を自動で調整する機能を持つ。今回、この APC (自動出力調節) 機能を持つ半導体レーザー (980nm 波長帯) 機器の紹介と、APC を使用し、Initiation の物理的特性の変化および考え方の再考、他のレーザーへの応用を試みる。

【使用機器および材料と方法】 LASER 980nm 半導体 レーザー (海外製品) 2,940nm Er:YAG レーザー アーウィン Evo (モリタ社製) 1,064nm Nd:YAG レーザー neocure Higher (松風社製) (特徴) 最高出力 25W Initiation のシステム化により、確実なチップ先端の波長及び温度特性の安定化 (Initiation 効果の比較) 対象: 豚レバー 鳥骨 (Initiation の種類) コルク, 酸化チタニウム, オリジナル TOPSystem, ベアファイバー

【結果および考察】 Initiation は、ファイバー先端の Initiation をシステム化し安定的に加工することにより、熱の影響を一定に保つことにある。これにより、ファイバーの操作速度に影響されることなく、組織への過度な熱の影響を減少させる目的がある。酸化チタニウムやコルクなどの Initiation に比較し施術部位への影響も安定すると思われた。酸化チタンを使用した initiation は、切除などによる周囲への熱変性による影響は限定的になるように感じられた。骨への応用なども水を同時に応用することで、蒸散面の熱変性層は最低限に抑えられていた。また、Er:YAG レーザーにおいては、切削・蒸散力の向上が感じられた。臨床に应用到されるのであれば、物理特性を精査する必要があるが今後の課題であると思われる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

03-05 Reconsider the effect of surgical fiber tip initiation using a diode laser (Possibility of application to other wavelengths)

○Nakajima K¹, Tamaki K², Uemura M³, Toyama Y⁴, Maejima K⁵

¹Dept Oral Med, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Apatite Corp; ³Dept Anat, Osaka Dent Univ; ⁴Seibo Dental Office; ⁵Maejima Dental Clinic

As a method of using a diode laser, there is a method of making a tip into a hot chip by using Initiation of a fiber chip. It is one of the more efficient methods of excision because it is permeable to tissue and there is a concern that the thermal effect on surrounding tissues will increase. Depending on the device, the temperature of the tip is controlled by an original sensor technology, so it has a function to automatically control the output according to the temperature condition of the tip. This time, using this diode laser (980 nm wavelength band) with APC (automatic power control) function, we will change the physical characteristics of the initiation and reconsider the way of thinking, and try to apply it to other lasers.

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

04-01 抜歯窩治癒過程における M2 様マクロファージ浸潤と TGF- β 分泌

○堀部 寛治¹, 原 弥勲², 中村 浩彰¹

¹松歯大 口腔解剖, ²松歯大病院 総合診断

【目的】 マクロファージは貪食能を有する免疫系細胞であるが, 近年, その組織修復誘導能が注目されている. しかし, 歯周組織, 歯槽骨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て, 抜歯窩治癒過程における浸潤マクロファージに注目し解析を行った.

【実験方法】 6週齢マウスの上顎第一臼歯を麻酔下にて抜去し, 1, 3, 7日後に上顎を採取した. 採取したサンプルをマイクロCT撮影, 組織学的・免疫組織学的手法による解析を行い, 抜歯窩治癒過程およびマクロファージの浸潤を経時的に観察した.

【結果】 処置1日後の抜歯窩は, 壊死巣で占められており, 成熟マクロファージマーカーのF4/80, 炎症性細胞や食細胞で発現するGalectin-3陽性細胞が残存歯根膜近傍に認められた. 処置3日後の抜歯窩には線維性骨が形成され, その周囲には, 筋線維芽細胞マーカーであり骨折治癒時の骨原性細胞が発現する α -SMA, 骨芽細胞マーカーRunx2, Osterix, Osteopontinの陽性反応が認められた. また, 組織修復に働くCD206陽性M2様マクロファージも多数認められた. 一方, 骨折治癒に寄与するとされるCD169陽性マクロファージの浸潤は限局的であった. 二重蛍光免疫染色により抜歯後3日に浸潤したF4/80陽性およびCD206陽性マクロファージは, 組織治癒と骨芽細胞の増殖と早期分化を亢進するTGF- β を発現することがわかった. さらに, α -SMA陽性細胞ではTGF- β の下流シグナルであるSmad3のリン酸化が亢進していることが確認された.

【考察】 これらの結果から, 抜歯後早期にマクロファージが抜歯窩内に浸潤し, 壊死巣の除去, 免疫防御と共に, TGF- β 産生を行い骨原性細胞である α -SMA陽性細胞の増殖と分化に寄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.

04-01 M2-like macrophage infiltration and TGF-beta secretion at the early stage of socket healing

○Horibe K¹, Hara M², Nakamura H¹

¹Dept Oral Anat, Matsumoto Dent Univ; ²Dept Oral Diagn, Matsumoto Dent Univ Hosp

Object: Macrophages are involved in tissue inflammation and repair through cytokine secretion. However, the contribution of macrophages to healing after tooth extraction remains unclear. Therefore, we investigated the distribution of macrophages in the early healing process after tooth extraction.

Methods: Maxillary first molars of 6-week-old mouse were extracted, and maxillae were harvested 1, 3, and 7 days later. The states of socket healing, localization of osteoblastic markers and macrophage infiltration were sequentially examined by micro-CT imaging and immunohistochemical analyze.

Results: On day 3 after tooth extraction, alpha-SMA-positive cells, osteoprogenitor cells at fracture healing, were observed in the socket. Several alpha-SMA-positive cells also expressed Runx2. The infiltration of F4/80-positive macrophages and CD206-positive M2-like macrophages was noted in the socket. These macrophages also showed the localization of TGF-beta, which promotes osteoprogenitor cell proliferation and early differentiation. Phosphorylated Smad3, a downstream signaling molecule by TGF-beta, was detected in alpha-SMA-positive cells. On day 7, the extracted socket contained a large amount of new bone.

Conclusion: These data indicate that M2-like macrophages regulate the proliferation and differentiation of alpha-SMA-positive cells by secreting TGF-beta at the early stage of socket healing.

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

04-02 p53 発現抑制による骨組織修復の促進

○二宮 禎¹, 永島 利通², 中村 純基³, 大橋 晶子¹, 藤原 恭子¹, 高橋 富久¹

¹日大 歯 解剖 I, ²日大 歯 口外・口腔外科, ³日大 歯 矯正

【目的】骨折の修復は、間葉系細胞（MSCs）から分化した骨芽細胞の骨形成能と密接に関係する。つまり、早期の骨折治癒は損傷部位に出現する MSCs の骨芽細胞分化を促進させることによって可能となる。一方、腫瘍抑制因子の p53 は osterix の発現レベルを低下させ、骨芽細胞分化を抑制することが知られている。しかし、骨折の治癒過程における p53 の役割については不明な点が多い。本研究では、p53 遺伝子欠損（KO）マウスを用いて骨欠損修復部位にみられる MSCs の特性と骨芽細胞への分化誘導能について野生型マウスのものと比較検討した。

【方法・結果】C57BL6 マウス（6 週齢，オス）の大腿骨中央部に骨欠損（1 mm 径）を作成し、マイクロ CT によって経時的な修復変化を観察した。骨欠損 5 日目にわずかな硬組織形成が認められ、その後、その領域は拡大した。骨欠損 3 日目に欠損部位から採取した MSCs の遺伝子発現を調べた結果、非欠損部位から採取した MSCs に比べて間葉系幹細胞マーカーの発現が増加した。p53KO マウスから骨髄由来 MSCs と頭蓋冠由来骨芽細胞（Obs）を採取し、細胞運動能、細胞増殖能および創傷治癒能を評価した。その結果、いずれの機能も p53KO 細胞は、野生型（WT）マウス由来細胞よりも高いレベルであった。さらに、BMP-2 の添加することで、p53KO-MSCs は WT-MSCs と比べて骨芽細胞マーカーの発現が増加した。

【結論】p53 が骨欠損部位における MSCs の細胞運動能、細胞増殖能、創傷治癒能および骨芽細胞への分化能を負に制御していることが明らかになった。これは、p53 の発現抑制が骨の再生に直接つながる可能性を示唆するものである。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

04-02 Expression of p53 in mesenchymal stromal cells has the inhibitory effects on the process of bone defect repair

○Ninomiya T¹, Nagashima T², Nakamura Y³, Ohashi A¹, Fujiwara K¹, Takahashi T¹

¹Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent; ²Div Oral Surg, Dept Oral Maxillofac Surg, Nihon Univ Sch Dent;

³Dept Orthodont, Nihon Univ Sch Dent

The tumor suppressor p53 is a transcription regulator that plays a role in inhibition of cell cycle, cell migration, and angiogenesis. Although p53 suppresses osteoblast differentiation through inhibition of osterix expression, the role of p53 in fracture repair has not been fully elucidated. In this study, we investigated the functional role of p53 in bone repair process.

Bone defects were created in the femurs of mice. The gene expression of mesenchymal stromal cells (MSCs) collected from the defect site on the 3rd day after surgery was quantified by real-time PCR. MSCs from defect site showed significantly higher expressions of the mesenchymal stem cell markers than those from non-defect site. Next, bone marrow-derived MSCs and calvaria-derived osteoblasts were collected from p53-deficiency (KO) mice and examined for abilities of cell motility, cell proliferation, and wound healing. KO cells showed higher potency for all functions compared with cells from wild type (WT) mice. Moreover, KO-MSCs showed higher activity than WT-MSCs in the osteoblast differentiation by addition of BMP-2.

This study suggests that p53 expression in MSCs negatively regulates the process of bone defect repair, thus inhibition of p53 may promote bone regeneration.

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

04-03 副甲状腺ホルモン間歇投与による皮質骨多孔化の組織化学的検索

○阿部 未来^{1,3}, 山本 知真也², 本郷 裕美³, 網塚 憲生³, 長谷川 智香³

¹北大 院歯 硬組織発生, ²自衛隊朝霞駐屯地 歯科, ³北大 院歯 硬組織発生

【目的】 骨粗鬆症治療薬として用いられている副甲状腺ホルモン (PTH) 製剤は, 間歇投与により海綿骨量を増加させる一方, 長期間投与により, 皮質骨, 特に骨内膜側の多孔化を誘導することが報告されている. そこで我々は, PTH 投与による皮質骨多孔化のメカニズム解明の一助として, PTH 間歇投与マウスの大腿骨を組織化学的に解析した.

【材料と方法】 生後6週齢雄性 C57BL/6J マウスに 40 μ g/kg/day の hPTH[1-34] を1日4回投与し, 1, 2, 4週間後にパラホルムアルデヒド溶液による灌流固定を行った. その後, 大腿骨のパラフィン切片を作製し, ALP, endomucin, TRAP の組織化学染色を行った.

【結果と考察】 PTH 間歇投与マウスの大腿骨では, 経時的に海綿骨骨量が増加する一方, 皮質骨の多孔化は, 骨幹端部成長板直下の領域から骨幹部に向かって進行していた. 多孔化した皮質骨の骨内膜側表面には, 多数の ALP 陽性骨芽細胞が局在するとともに, TRAP 陽性破骨細胞を伴った endomucin 陽性血管が認められた. また, PTH 間歇投与マウスでは, PTH 非投与のコントロールマウスに比べて, endomucin 陽性血管が皮質骨の骨内膜側に偏在し, 一部の血管は骨基質に近接する像が認められた.

以上より, PTH 間歇投与により, endomucin 陽性血管が皮質骨の骨内膜側に近接し, それに伴って破骨細胞の局在する傾向が認められたことから, 皮質骨多孔化の機序として破骨細胞を伴う血管侵入が関与する可能性が推測された. 現在, その組織学的機序についてさらに詳しく解析を行っている.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

04-03 Histochemical assessment on cortical porosity induced by intermittent PTH administration in mice

○Abe M^{1,3}, Yamamoto T², Hongo H³, Amizuka N³, Hasegawa T³

¹Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ²Dental Unit, Camp Asaka, Japan Ground Self-Defense Force; ³Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Purpose: It is well known that the long term PTH administration causes cortical porosity in bone. In this study, therefore, we have attempted to histochemically verify the initial process of cortical porosity induced by PTH administration in mice.

Materials and Methods: Six weeks-old C57BL/6J mice received hPTH[1-34] with regimen of 40 μ g/kg/day four times a day. After the injection, the mice were perfused with paraformaldehyde solution, and then, femora were examined for ALP, TRAP and endomucin histochemistry.

Results and discussion: PTH-driven porosity was observed in the cortical bone close to the epiphyseal growth plate, but chronologically expanded toward the diaphysis. Endosteal surface of the cortical bone of PTH administrated mice revealed a thick layer of ALP-positive osteoblasts. Endomucin-reactive blood vessels formed a line parallel and close to the endosteal bone surface, when compared with the control specimens. In addition, endomucin-positive blood vessels were focally in close proximity of the endosteal bone surface, often being accompanied with TRAP-positive osteoclasts.

Taken together, it seems likely that the cortical porosity induced by intermittent PTH administration may be initially induced by the migration of endomucin-positive blood vessels to the cortical bone surface being accompanied with osteoclasts.

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

04-04 歯髄幹細胞由来無血清培養上清を用いた変形性顎関節症の治療法開発

○加納 史也, 山本 朗仁

徳大 院医歯薬 組織再生制御

【背景】変形性顎関節症 (TMJOA) は、進行性の軟骨変性と異常な骨リモデリング、慢性疼痛を特徴とする変性疾患である。運動機能障害や激しい疼痛によって患者の QOL は著しく低下する。現在は疼痛や炎症制御による対処療法が主流であり、関節軟骨や骨組織の再生を促す新しい治療法の開発が望まれている。近年、モデル動物への幹細胞移植による再生治療効果が報告されている。しかしながら、移植細胞の生着率の低さや拒絶反応、倫理問題などから臨床応用は困難である。今回われわれは、ヒト歯髄幹細胞無血清培養上清 (SHED-CM) に着目した。これまでに我々は SHED-CM に含まれるパラクライン因子が抗炎症、組織再生能力を有することを報告してきた。

【目的】強制大開口によるマウス TMJOA モデルに SHED-CM を静脈投与し、治療有用性の評価と治癒メカニズムの解明を目指した。

【結果】SHED-CM 投与は、側頭筋の炎症を顕著に抑制し、破壊された下顎頭の表面の性状を改善した。また SHED-CM 投与群では、IL-1b, iNOS および MMP-13 等、病態増悪因子を発現する軟骨細胞が減少した。さらに、関節表層の未分化軟骨細胞の細胞増殖マーカー PCNA の発現を誘導した。SHED-CM 投与群の下顎頭軟骨部の TUNEL 陽性細胞は DMEM 投与群と比較し有意に減少し、軟骨基質発現面積は Sham 群と同程度まで回復していた。セクレトーム解析により、SHED-CM は骨軟骨再生に関与する複数の因子を含むことが明らかとなった。

【結論】SHED-CM は多面的な治療効果により TMJOA の新たな治療薬になる可能性を示唆した。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

04-04 Factors secreted from dental pulp stem cells show multifaceted benefits for treating experimental temporomandibular joint osteoarthritis

○Kano F, Yamamoto A

Dept Anat Histol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

Objective: Temporomandibular joint osteoarthritis (TMJOA) is a degenerative disease characterized by progressive cartilage degeneration, abnormal bone remodeling, and chronic pain. In this study, we aimed to investigate effective therapies to reverse or suppress TMJOA progression.

Design: To this end, we performed intravenous administration of serum free conditioned media from human exfoliated deciduous teeth stem cells (SHED-CM) into a mechanical-stress induced murine TMJOA model.

Results: SHED-CM administration markedly suppressed temporal muscle inflammation, and improved bone integrity and surface smoothness of the destroyed condylar cartilage. Moreover, SHED-CM treatment decreased the number of IL-1b, iNOS, and MMP-13 expressing chondrocytes, whereas it specifically increased PCNA-positive cells in the multipotent polymorphic cell layer. Notably, the numbers of TUNEL-positive apoptotic chondrocytes in the SHED-CM treated condyles were significantly lower than in those treated with DMEM, demonstrating that SHED-CM treatment regenerated the mechanical-stress injured condylar cartilage and subchondral bone. Secretome analysis revealed that SHED-CM contained multiple therapeutic factors that act in osteochondral regeneration.

Conclusions: Our data demonstrated that SHED-CM treatment promoted the regeneration and repair of mechanical-stress induced mouse TMJOA. Our observations suggest that SHED-CM has potential to be a potent tissue-regenerating therapeutic agent for patients with severe TMJOA.

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

04-05 TAK1 は PP2A 阻害因子 CIP 2A 発現を誘導し骨髄腫細胞の生存シグナルを増強する

○寺町 順平

岡大 院医歯薬 口腔機能解剖

多発性骨髄腫 (MM) は、骨吸収の著明な亢進と骨形成の抑制が相まってしばしば頭蓋・顎顔面に広範な骨破壊性病変を呈する。我々は MM 細胞において TAK1 が高発現し恒常的にリン酸化され、腫瘍進展に関与し、さらに骨髄腫細胞により骨髄間質細胞や破骨細胞においても TAK1 のリン酸化が誘導され骨病変形成を誘導していることから、TAK1 が腫瘍進展と骨喪失をもたらす細胞内シグナルに関わる枢軸的な因子であることを見出した。通常、キナーゼによりリン酸化されたタンパク質は速やかにフォスファターゼにより脱リン酸化されるが、MM 細胞での TAK1 の恒常的な活性化は、その脱リン酸化酵素の異常により引き起こされているのではないかと考え検討を行った。

【方法・結果】1) MM 細胞にセリン・スレオニンフォスファターゼである PP2A の阻害剤 (オカダ酸) を処理すると TAK1 のリン酸化が誘導される一方、PP2A の活性化剤 (SMAP) によりリン酸化 TAK1 の発現が抑制され、細胞死を誘導した。2) 内因性 PP2A 抑制因子である CIP2A が MM 細胞において高発現し、CIP2A ノックダウンにより TAK1 のリン酸化及びその発現が抑制され、細胞死が誘導された。3) TAK1 阻害により MM 細胞の CIP2A の発現が抑制された。4) TAK1 阻害は PI3K-AKT 経路を直接的には阻害しないが、TAK1 阻害により CIP2A 発現を抑制させると IGF1 による AKT のリン酸化が顕著に抑制された。

【まとめ・考察】MM 細胞における TAK1 の高発現・恒常的なリン酸化は、その下流因子である CIP2A の発現誘導を介した PP2A 活性の抑制により増強されていること、さらに骨髄腫環境下において TAK1 の活性化が CIP2A を介し TAK1 自身の発現および活性化をさらに増強するという自己増幅・活性化経路を引き起こし、IGF-1 経路も増強していることが示唆された。

【会員外共同演者】清水宗 (徳島大・口腔顎顔面矯正), 原田武志 (徳島大・血液・内分泌代謝内科), 安倍正博 (徳島大・血液・内分泌代謝内科)

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

04-05 TAK1 upregulates the PP2A inhibitor CIP2A to potentiate survival signaling pathways in myeloma cells

○Teramachi J

Dept Oral Funct Anat, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ

TAK1 is constitutively over-expressed and phosphorylated in myeloma (MM) cells to mediate their growth and survival signaling. In this study, we explored the underlying mechanism of TAK1 activation in MM cells, focusing on the roles of phosphatase. Okadaic acid, an inhibitor of protein phosphatase 2A (PP2A), further enhanced the phosphorylation levels of TAK1 in MM cells, whereas SMAP, an activator of PP2A, suppressed phosphorylation of TAK1 along with inducing MM cell death. MM cells highly expressed cancerous inhibitor of PP2A (CIP2A), an endogenous PP2A inhibitor, while normal quiescent cells did not. Importantly, CIP2A knockdown suppressed TAK1 phosphorylation and expression to cause apoptosis in MM cells. The TAK1 inhibition did not affect immediate activation of the IGF1-PI3K-Akt survival pathway in MM cells but was able to suppress it as CIP2A was downregulated. These results collectively suggest TAK1-mediated mitigation of PP2A activity via CIP2A upregulation in MM cells, which creates a progressive auto-amplification loop between TAK1 expression and its activation to further activate other tumor-associated survival signaling pathways in addition to immediate TAK1 activation, including IGF1-PI3K-Akt survival pathway.

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

04-06 S- アデノシルメチオニンはポリアミン合成経路を介して軟骨細胞の増殖および基質合成を促進する.

○青山 絵理子¹, 久保田 聡², 滝川 正春¹

¹岡大 歯先端研セ, ²岡大 院医歯薬 口腔生化

S-アデノシルメチオニン (S-adenosylmethionine: SAM) はメチオニンの代謝産物であり, 変形性関節症や肝疾患および抑うつなどの改善効果が知られている. しかし, その作用機序については未だ明らかにされていない. そこで今回我々はヒト軟骨細胞様細胞株 HCS-2/8 を用いて SAM の軟骨細胞における作用とその機序の解明を試みた. まず, 軟骨細胞の分化に関する遺伝子として軟骨細胞の分化, 増殖, 基質合成を正に制御する因子である CCN2 および軟骨の代表的な細胞外基質の一つである II 型コラーゲンの発現に対する SAM の影響を調べた. その結果, HCS-2/8 細胞に SAM を添加して, 4 時間後には CCN2 の発現が上昇し, 24 および 48 時間後には CCN2 および II 型コラーゲンの発現が上昇していた. 次に SAM を添加してから 48 時間後の細胞数を計測したところ, 対照群に比べて細胞数が増加していた. さらに軟骨型プロテオグリカン産生における SAM の作用を確認するため SAM を添加して 1 週間培養した軟骨細胞を Alcian blue 染色したところ, SAM 添加群で染色度の上昇が認められた. また, SAM は生体内で adenosylmethionine decarboxylase (AMD1) によって脱炭酸されて decarboxylated-SAM (dcSAM) となるが, これはポリアミン合成に必要な中間体であることから, SAM の作用はポリアミン合成を介するとの仮説のもと AMD1 阻害剤を用いて検証したところ, 阻害剤の存在下では SAM による Alcian blue 染色度の上昇が抑制された. 以上の結果から SAM は CCN2 および II 型コラーゲンといった基質合成に関連する因子の発現を促進するだけでなく増殖においても促進的に働き, またポリアミン合成経路を介して軟骨基質の蓄積を上昇させることが明らかになった. 非会員共同研究者: 棚井あいら (岡山大学歯学部)

[利益相反] 著者は利益相反がないことを宣言する.

04-06 S-adenosylmethionine promotes ECM production and proliferation of chondrocytes through polyamine synthesis

○Aoyama E¹, Kubota S², Takigawa M¹

¹ARCOCS, Dent Sch, Okayama Univ; ²Dept Biochem Mol Dent, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ

S-adenosylmethionine (SAM) which is a metabolite of methionine is known to have the positive effect on osteoarthritis, depression and liver disease. However, the mechanism of effect of SAM in chondrocytes remains unclear. In the present study, we investigated the effects of SAM on chondrocytes, by using chondrocytic cell line HCS-2/8. First, real time PCR analysis showed that the expressions of CCN2 and type II collagen were increased after the treatment of SAM. Moreover, the positive effects of SAM on the accumulation of ECM was confirmed by Alcian blue staining. Furthermore, SAM also indicated the positive effect on the proliferation of chondrocytic cells. Next, we used the decarboxylase inhibitor to reveal the involvement of polyamine synthesis in the effect of SAM because decarboxylated SAM (dcSAM) is a precursor of polyamines. As the result, the positive effect of SAM on Alcian blue staining was suppressed by the inhibitor. These findings showed that SAM can increase the gene expression of the factors relating to ECM production and proliferation. Furthermore, SAM can promote the accumulation of ECM which is mediated by the polyamine synthesis.

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

04-07 JNK 活性の減弱は正常な骨芽細胞分化を阻害し、転写因子 Id4 を介してオステオポンチン高発現細胞を誘導する

○楠山 譲二¹, 成 昌典², 大西 智和², 嶋 香織³, 仙波 伊知郎³, 松口 徹也²

¹東北大学際フ新領域, ²鹿大院医歯口腔生化, ³鹿大院医歯口腔病理

【背景】骨芽細胞由来タンパク質であるオステオポンチン (OPN) とオステオカルシン (OCN) の分泌量とパターンは、骨芽細胞のもつ骨形成や免疫反応などの多機能性を特徴づける。しかし骨芽細胞における OPN と OCN の発現調節機構は不明な点が多い。本研究は骨芽細胞の分化誘導条件の違いで、OPN と OCN 発現量に差を持つ異なった骨芽細胞分化形式が存在する可能性を検討した。【方法と結果】C57BL/6 マウス由来骨芽細胞を JNK 阻害剤存在下でアスコルビン酸、BMP2 または FGF2 で分化誘導すると、石灰化基質形成をせず OCN が低発現であるが OPN を高発現する細胞 (OPN 型) が出現した。分化誘導開始前に JNK 活性を阻害した場合も OPN 型の数が増加したことから、ごく初期の JNK 活性が OPN 型への分化シフトを誘導することが示唆された。また JNK アイソフォームのうち JNK2 が OPN 型分化に関与していた。次に未分化骨芽細胞、通常分化骨芽細胞、OPN 型骨芽細胞の遺伝子発現を網羅解析し、OPN 型の分化誘導に必須の転写因子 inhibitor of differentiation 4 (Id4) と特異的な分泌タンパク質群及び細胞表面マーカーを同定した。JNK 内因性制御分子である JNK 特異的フォスファターゼ DUSP16 欠損マウスでは、OPN 型骨芽細胞の出現率が減少し、血清中 OPN 量は有意に低かった。また骨分化誘導時に *Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS を加えると OPN 型の出現が増加したことから、歯周炎が骨芽細胞分化タイプに影響する可能性が示唆された。【考察】骨芽細胞の分化形式には OPN 型が存在し、OPN 型への誘導は分化初期の JNK 活性によって制御される Id4 で制御されていることが考えられる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

04-07 JNK inactivation suppresses osteogenic differentiation, but robustly induces osteopontin expression in osteoblasts through the induction of Id4

○Kusuyama J¹, Seong CH², Ohnishi T², Shima K³, Semba I³, Matsuguchi T²

¹Front Res Inst Interdiscipl Sci (FRIS), Tohoku Univ; ²Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci; ³Dept Oral Pathol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

Osteoblasts are versatile cells involved in multiple whole-body processes by modulating the secretory amounts and patterns of osteoblast-derived proteins such as osteopontin (OPN) and osteocalcin (OCN). However, the regulatory mechanism of OPN and OCN expression remains unknown. Here, we demonstrate that c-jun N-terminal kinase (JNK) inhibition suppresses matrix mineralization and OCN expression but increases OPN expression in primary osteoblasts treated with differentiation inducers, including ascorbic acid, BMP-2, or FGF-2. Preinhibition of JNK before the onset of differentiation increased the number of osteoblasts that highly express OPN but not OCN (OPN-OBs), indicating that JNK affects OPN secretory phenotype at the early stage of osteogenic differentiation. Additionally, we identified JNK2 isoform as being critically involved in OPN-OB differentiation. Microarray analysis revealed that OPN-OBs express characteristic transcription factors, cell surface markers, and cytokines. Moreover, we found that inhibitor of DNA binding 4 (Id4) is an important regulator of OPN-OB differentiation and that dual-specificity phosphatase 16 (DUSP16), a JNK-specific phosphatase, functions as an endogenous regulator of OPN-OB induction. OPN-OB phenotype was also observed following LPS from *Porphyromonas gingivalis* stimulation during osteogenesis. Collectively, these results suggest that the JNK-Id4 signaling axis is crucial in the control of OPN and OCN expression during osteoblastic differentiation.

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

05-01 舌癌における筋線維再生への High mobility group box 1 (HMGB1) の関与

○小笠原 悠大^{1,2}, 崎山 浩司¹, 小野澤 豪^{1,3}, 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 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、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。HMGB1 は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 endproducts (RAGE) が筋の再生過程で関与するの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 1 回注入し、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回数で 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 抗体および抗 MMP-2 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。

05-01 Involvement of High mobility group box 1 (HMGB1) in muscle fiber regeneration in tongue cancer

○Ogasawara Y^{1,2}, Sakiyama K¹, Onozawa G^{1,3}, Nagasaka A¹, Bando Y¹, Amano O¹

¹Div Anat, Meikai Univ Grad Sch Dent; ²Div Oral Maxillofac Surg 2, Meikai Univ Sch Dent; ³Div Oral Maxillofac Surg 1, Meikai Univ Sch Dent

Our previous study showed strongly expressed of high mobility group box 1 (HMGB1) is involved in necrosis occurred in muscle fibers close to the tongue cancer. On the other hand, HMGB1 has also been suggested to be involved in the repair of muscle fibers after inflammation. Therefore, we investigated how HMGB1 and its receptor RAGE (receptor for advanced glycosylation endproducts) play their roles in the process of regenerating necrotic muscle fibers. The SCC7 cells were injected once into the tongue of BALB/cAJcl nude mice in order to create the tongue cancer model. After the injection, samples were collected after 2, 3 and 4 weeks. Necrosis of muscle fibers accompanying immunoreactivity for HMGB1 and RAGE were observed in tongue of SCC7-injected mice. In addition, HMGB1-expression without RAGE-immunoreaction was observed around the regenerating muscle fibers. These results suggested that HMGB1/RAGE system is involved in muscle regeneration in tongue cancer microenvironment.

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

05-02 筋ジストロフィーモデルマウスの筋再生と High mobility group box 1 (HMGB1) との関係

○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】細胞の核内に存在するタンパク質である High mobility group box 1 (HMGB1) は、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、HMGB1 が舌癌周囲の筋に与える影響について検索を行ってきた。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 は筋の再生に関与するのではないかと示唆された。そこで、生後 3 週から 4 週にかけて筋線維が再生するといわれてい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】試料は生後 3 週齢, 4 週齢, 5 週齢および 8 週齢の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) の咬筋と前脛骨筋を用いた。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に染色後、観察を行った。

【結果および考察】HE 染色像を観察すると、B10 マウスでは筋周囲に核を持った正常な筋線維が観察された。それに対し mdx マウスの生後 3 週齢と 4 週齢では、筋線維が壊死した部位と中心核を呈した再生筋線維が混在しているのが確認された。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。以上のことから、HMGB1 は Pax7 の発現を誘導し、筋の再生に強く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。

05-02 Relation between muscle fibers regeneration and high mobility group box 1(HMGB1) in a model mouse of muscular dystrophy

○Sakiyama K¹, Ogasawara Y^{1,2}, Onozawa G^{1,3}, Nagasaka A¹, Bando Y¹, Amano O¹

¹Div Anat, Meikai Univ Sch Dent; ²Div Oral Maxillofac Surg 2, Meikai Univ Sch Dent; ³Div Oral Maxillofac Surg 1, Meikai Univ Sch Dent

High mobility group box 1 (HMGB1) exists in the nucleus of all normal cells being involved in homeostasis. We have previously revealed that the HMGB1 protein released from the carcinoma had reduced the size of the myofibers, this promotes cancer invasion through the formation of a clearance gap in high density skeletal muscle tissue. 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 antibody was 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 author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

05-03 CCN2の核移行による線維化の制御○西田 崇^{1,2}, 滝川 正春², 久保田 聡¹¹岡大 院医歯薬 口腔生化, ²岡大 歯先端研セ

Cellular communication network factor 2 (CCN2) は細胞外基質タンパク質を著明に産生することから線維性疾患の責任分子として考えられてきた。しかし、米国での抗 CCN2 抗体による線維症の臨床治験では、その有効性が確認できなかった。CCN2 は細胞内にも存在し、そこでは別の機能を持つことが示唆されていることから、我々は細胞外に分泌された CCN2 が線維化に重要ではなく、細胞内の CCN2 が核内に移行し、線維症の発症と進行に関わっていると考えた。この仮説を検証するため、Flag-tag を付加した signal peptide (SP) を除いた *Ccn2* (Flag-*Ccn2*) 及び 3' 末端に HA-tag を付加した *Ccn2* (*Ccn2*-HA) の発現プラスミドをそれぞれ構築し、未分化間葉系 C3H10T1/2 細胞に遺伝子導入した。CCN2 の局在を蛍光免疫染色法と核-細胞質画分に分けた Western blot 法で調べた結果、*Ccn2*-HA を遺伝子導入した群では主として細胞質に局在したが、Flag-*Ccn2* を遺伝子導入した群では核内に局在が見られた。そこで次に、Flag-*Ccn2* を用いて CCN2 の核移行が線維化に対してどのような影響を及ぼしているのかを解析した。C3H10T1/2 細胞に Flag-*Ccn2* あるいは empty vector (EV) を遺伝子導入し、筋線維芽細胞への分化を促進する転写因子 PU.1 の遺伝子発現レベルを調べたところ、Flag-*Ccn2* を遺伝子導入した群で PU.1 の遺伝子発現レベルが上昇し、さらに線維化の増悪因子である Tenascin-C 及び PDGF-AB/BB の産生量も EV 導入群と比べて増加した。これらの結果は、核内に移行した CCN2 が PU.1 の遺伝子発現上昇を介して線維化の増悪に関わっていることを示唆している。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。**05-03 Regulation of fibrosis by nuclear translocation of CCN2**○Nishida T^{1,2}, Takigawa M², Kubota S¹¹Dept Biochem Mol Dent, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ²ARCOCS, Dent Sch, Okayama Univ

Cellular communication network factor 2 (CCN2) has been considered as a responsible factor of fibrosis, because it promotes extracellular matrix protein production. However, it was demonstrated that clinical trial of fibrosis using anti-CCN2 antibody had no effect in USA. It is known that CCN2 is also present in the cells to exert distinct functions. Therefore, we hypothesized that intracellular CCN2 translocated into the nucleus to promote the progression of fibrosis. To test this hypothesis, we constructed expression plasmids of Flag-tagged *Ccn2* without signal peptide (SP; Flag-*Ccn2*) and HA-tagged *Ccn2* with SP (*Ccn2*-HA), respectively, and introduced these plasmids to C3H10T1/2 cells. Immunofluorescence and Western blot analyses revealed that CCN2 was localized in the nucleus and cytoplasm in the cells with Flag-*Ccn2*, but predominantly in the cytoplasm in the cells with *Ccn2*-HA. Therefore, using Flag-*Ccn2*, we next investigated the effect of nuclear translocation of CCN2 on fibrosis. The gene expression of PU.1, which is transcription factor to promote myofibroblast differentiation, was up-regulated, and Tenascin-C and PDGF-AB/BB, which are progressive factors of fibrosis, were increased in C3H10T1/2 cells transferred with Flag-*Ccn2*. These findings suggest that CCN2 translocated into nucleus is involved with progression of fibrosis via up-regulation of PU.1.

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

05-04 胆道閉鎖症患児由来乳歯幹細胞の細胞移植治療効果を制御する機序の解析

○園田 聡一郎, 村田 早羅, 加藤 大樹, 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, 新生児期に発症する, 肝外胆管閉鎖を原因とする胆汁うっ滞性疾患であり, 肝移植が必要となる患者が多い. 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 BA 患児由来乳歯幹細胞 (BA-SHED) を経脾的に投与し, 健常児由来乳歯幹細胞 (SHED) の移植効果との比較解析を行い, 前回大会で報告した. SHED 同様, BA-SHED は肝機能の改善および線維化の消退をもたらしたが, BA-SHED 移植群では血中総ビリルビン値の改善および胆管組織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. 本研究では, BA-SHED を用いた自家細胞移植を可能とするために, BA-SHED の移植効果低下の機序を解析した.

【方法】BA 患児由来の SHED を単離した. *In vitro* にて肝細胞分化誘導を行い, 遺伝子発現解析および生化学的解析, 組織学的解析により SHED と BA-SHED の分化能を比較した. また, 胆道上皮細胞分化の方向づけに重要な転写因子である HNF6 の発現を未分化な SHED および BA-SHED で比較した.

【結果】BA-SHED は, *in vitro* にて肝細胞様細胞への分化を示し, SHED との差は認められなかった. しかし, SHED と比較して BA-SHED は未分化な状態で HNF6 の発現が上昇していた.

【考察】HNF6 は肝前駆細胞において肝細胞・胆道上皮細胞の分化を方向づける転写因子であり, その過剰発現が胆道上皮細胞分化を抑制することが報告されている. BA-SHED 移植群では胆管組織の再生が認められなかった事実を踏まえると, BA-SHED では HNF6 の過剰発現により胆道上皮細胞への分化が抑制されている可能性が考えられる. 今後, BA-SHED の HNF6 過剰発現が胆道上皮細胞の分化へ与える影響を解析する必要がある.

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する.

05-04 Analyzing a mechanism that causes downregulated therapeutic effects of biliary atresia patient-derived-stem cells from human exfoliated deciduous teeth

○Sonoda S, Murata S, Kato H, Kyumoto Y, Uehara N, Kukita T, Yamaza T

Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

Purpose: Biliary atresia (BA) is a cholestatic disease caused by bile duct obstruction. Although many patients result in receiving a liver organ transplantation, there are not enough donors. Therefore, it is needed to suppress fibrosis in the pre-transplantation period. In the previous report, we showed that transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) and BA patient derived-SHED (BA-SHED) ameliorated hepatic functions and suppressed hepatic fibrosis in a liver fibrosis mouse model. However, BA-SHED transplanted mice's liver did not show recovering of serum total bilirubin levels and regeneration of bile duct structures in contrast to SHED. In this study, we analyzed a mechanism that downregulates the therapeutic effects of BA-SHED transplantation.

Methods: We cultured BA-SHED in the hepatic differentiating condition and analyzed *in vitro* hepatic differentiation capacity. Finally, we assessed HNF6 expression in intact BA-SHED compared to SHED.

Results: BA-SHED exhibited a differentiation capacity into hepatocyte-like cells *in vitro* as well as SHED. On the other hand, intact BA-SHED expressed higher levels of HNF6 than intact SHED.

Conclusion: A previous study reported that overexpression of HNF6 suppressed the biliary commitment of hepatoblast. Regarding these facts, the biliary cell differentiation capacity might be downregulated in BA-SHED by HNF6.

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

05-06 アレンドロネートによる caspase-11 発現増強

○玉井 利代子, 眞島 いづみ, 清浦 有祐

奥羽大 歯 口腔感染免疫

【目的】 以前, 我々は, 窒素含有 bisphosphonates の一種であるアレンドロネート (ALN) 前処理による, リピド A 誘導 IL-1 β 産生の増加を報告した. 本研究では, IL-1 β 産生で重要な役割を担う NLRP3, ASC, caspase-1 および caspase-11 発現および細胞外への放出について検討した.

【方法】 マウスマクロファージ様細胞 J774.1 は, 10% ウシ血清含有 RPMI1640 培地を用いて, 5%CO₂, 37°C で継代培養後, 60 mm ディッシュ 1 枚あたり 3×10^6 個または 96 穴平底マイクロプレートに 1 穴あたり 2×10^5 個播種した. 一晩後 1 回細胞を洗い, 同細胞を ALN (1-100 μ M) 含有または不含の培地で 24 時間培養した. そして, 細胞質タンパクまたは上清を回収後, ウェスタンブロット法で NLRP3, ASC, caspase-1 および caspase-11 の発現を調べた. RIPK3 抑制剤である GSK' 872 (3 μ M または 10 μ M), caspase-8 抑制剤 Ac-IETD-CHO (10 μ M), および pan-caspases 抑制剤 Z-VAD-FMK (10 μ M) は ALN 添加 1 時間前に J774.1 細胞とインキュベートした.

【結果と考察】 (1) ALN は, J774.1 細胞の caspase-11 発現を濃度依存的に増強した. (2) ALN は NLRP3, ASC および caspase-1 の細胞外への放出を増加した. (3) GSK' 872 は, ALN による J774.1 細胞の caspase-11 発現増強を濃度依存的に抑制した. 以上の結果は, ALN による RIPK3 活性化が, リピド A の受容体である caspase-11 の発現を増強することによって, リピド A 誘導 IL-1 β 産生の増加を引き起こす可能性を示唆する.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

05-06 Alendronate up-regulated the expression of caspase-11

○Tamai R, Mashima I, Kiyoura Y

Div Oral Infect Immun, Sch Dent, Ohu Univ

Purpose: In previous study, we demonstrated that pretreatment of alendronate (ALN), a nitrogen-containing bisphosphonate, augmented lipid A-induced IL-1 β production. In this study, we investigated the expression and extracellular release of NLRP3, ASC, caspase-1 and caspase-11, which play important roles in IL-1 β production.

Method: The mouse macrophage-like J774.1 cells (3×10^6 cells/dish or 2×10^5 cells/well) cultured in RPMI1640 medium containing 10% FBS. After overnight, the cells were washed once and treated with or without ALN (1-100 μ M) for 24 h. The expression of NLRP3, ASC, caspase-1 or caspase-11 was examined by Western blotting. For inhibition assays, J774.1 cells were pretreated with a RIPK3 inhibitor GSK'872 (3 or 10 μ M), a caspase-8 inhibitor Ac-IETD-CHO (10 μ M), or a pan-caspases inhibitor Z-VAD-FMK (10 μ M) for 1 h prior to the addition of ALN.

Results and Discussion: (1) ALN up-regulated caspase-11 expression by J774.1 cells in a dose-dependent manner. (2) ALN augmented the extracellular release of NLRP3, ASC and caspase-1. (3) GSK'872 inhibited ALN-augmented caspase-11 expression by J774.1 cells in a dose-response manner. These results suggest that RIPK3 activation by ALN might augment lipid A-induced IL-1 β production by up-regulating the expression of caspase-11, a receptor of lipid A.

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

05-07 血管発生におけるグリシンの用量依存的二相性効果

○田村-辻 潔美, 佐藤 真理, 田村 正人

北大 院歯 口腔分子生化

【背景・目的】 アミノ酸の一種であるグリシンは、血管新生を促進するという報告の一方で、血管新生を抑制するという矛盾する作用が報告されている。我々は、この矛盾がグリシン濃度に依存するのではないかと考えた。

【方法】 血管特異的に蛍光タンパク質を発現するゼブラフィッシュの胚に対して、広い用量のグリシンを暴露し、血管発生への影響を観察した。グリシン輸送体阻害剤 (sarcosine, bitopertin) とグリシン受容体阻害剤 (strychnine) の投与による変化も検討した。

【結果】 グリシンは低用量ではゼブラフィッシュの血管新生を促進し、一方、高用量では血管新生を抑制した。これらの効果は、グリシン輸送体またはグリシン受容体阻害剤によって中和され、さらに、血管新生に関与する VEGF と NOS の発現変化を伴っていた。

【考察】 グリシンはゼブラフィッシュの血管発生において、用量依存的な二相性効果を示した。低用量グリシンは、血管新生因子として働き、一方、高用量グリシンは抗血管新生に機能する。これらの効果は、グリシン輸送体またはグリシン受容体に部分的に依存しており、VEGF と NOS の発現を介して調節されている可能性がある。本研究において我々は、グリシンが血管新生と抗血管新生の両方に作用するユニークな分子であることを明らかにした。

【会員外共同研究者】 藤田深里 (神奈川大学)

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

05-07 Dose-dependent biphasic effects of glycine on vascular development of zebrafish embryos

○Tsuji-Tamura K, Sato M, Tamura M

Dept Oral Biochem Mol Biol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Objective: Glycine, a non-essential amino acid, has been reported to play a seemingly conflicting role in both angiogenesis and anti-angiogenesis. We hypothesized that glycine would exert different effects on angiogenesis in dose-dependent manner.

Methods: We examined the effects of a broad range of doses of glycine on vascular development using fluorescent transgenic zebrafish Tg(fli1a:Myr-mCherry) embryos. Effects of glycine transporter (GlyT) inhibitors (sarcosine and bitopertin) and a glycine receptor (GlyR) inhibitor (strychnine) were also investigated in monotherapy or combination with glycine.

Results: Low-doses of glycine promoted the vascular development, whereas high-doses inhibited it. The promoted effects of low-glycine were reversed by treatment with GlyT and GlyR inhibitors. Interestingly, the inhibitory effects of high-glycine were attenuated by treatment with GlyT inhibitors. Furthermore, alteration of expression in VEGF (an angiogenic factor) and NOS (an enzyme for nitric oxide synthesis) correlated with the dose-dependent effects of glycine.

Conclusion: Glycine displayed dose-dependent biphasic effects on vascular development in zebrafish. Low-doses of glycine induce angiogenesis, whereas high-doses of glycine cause anti-angiogenesis. These effects rely on GlyTs and GlyRs, and may be regulated by the expression of VEGF and NOS genes. Glycine may be a novel unique target for both angiogenic and anti-angiogenic therapy.

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

05-08 iGONAD ゲノム編集を用いた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

浜松医大 医化学

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（improved-Genome editing via Oviductal Nucleic Acids Delivery, iGONAD 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、iGONAD 法などによりマウス 40 遺伝子 50 系統以上、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】 著者は利益相反がないことを宣言する。

05-08 Analysis of brain and face development by small tag knock-in mouse using genome editing iGONAD method

○Aoto K

Dept Biochem, 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 (iGONAD method). The advantage of iGONAD 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 40 genes, more than 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 author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

06-01 Cdc42 は小胞輸送を制御することにより腺腔側膜形成を促進する

○設楽 彰子, 大野 雄太, 長瀬 春奈, 柏俣 正典

朝日大 歯 薬理

【目的・背景】障害を受けた唾液腺を再生するため発生機構の解析が盛んに行われている。しかし多くは初期の分枝形態形成機構を調べたものであり、出生後に形態形成を完了する腺房細胞の形成機構には不明な点が多い。以前の研究で我々は、細胞極性やアクチン細胞骨格を制御する Rho ファミリー G タンパク質 (RhoGTPase) である Cdc42 が腺房細胞の腺腔側膜の形成・維持を制御することを明らかにした (Shitara et al., 2019)。本研究では、Cdc42 依存性の腺房細胞形成メカニズムを調べた。

【結果】腺房細胞形成過程において Cdc42 をノックアウトすると、腺腔側膜形成が抑制されるとともに、細胞膜輸送シグナルを持つ GFP が細胞内の小胞上へと誤輸送された。GFP 小胞は腺腔側膜形成領域の細胞膜近傍に集積していたことから、GFP は腺腔側膜形成に関与する小胞上に局在することが示唆された。そこで腺腔側膜のマーカータンパク質であるアクアポリン 5 または、培養上皮細胞を用いた系で腺腔側膜形成小胞のマーカータンパク質とされている Rab11a の局在を調べたところ、いずれも GFP 小胞と共局在することが明らかになった。最後に Cdc42 が腺腔側膜形成小胞の輸送を制御する仕組みを調べるために、アクチン重合核形成因子 mDial, Arp2/3 複合体に対する抗体で免疫染色を行なった。その結果 mDial が GFP を含む小胞上に集積することが示された。

【考察】mDial は RhoGTPase である RhoA のエフェクターであり、直鎖状のアクチンの形成を促進する。Cdc42 は RhoA を不活性化し、腺腔側膜形成小胞上における直鎖状のアクチンの形成を抑制することにより、腺腔側膜の形成を制御するのかもしれない。今後、腺房細胞発生過程における Cdc42 と RhoA のクロストークのさらなる解析が必要である。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

06-01 Cdc42 facilitate apical membrane formation through regulation of membrane trafficking

○Shitara A, Ohno Y, Nagase H, Kashimata M

Dept Pharmacol, Fac Dent, Asahi Univ

To regenerate the damaged salivary gland, many studies have investigated the mechanisms of development, however little is known about the mechanisms of salivary acinus formation which starts after birth. We have previously shown that the RhoGTPase Cdc42, which plays a central role in establishing cell polarity, regulates the homeostasis and establishment of the apical plasma membrane (APM) in submandibular acinar cells (Shitara et al., 2019). Here we examined the mechanisms of Cdc42-dependent APM establishment. Cdc42-depletion induced miss-transport of membrane-targeted GFP into intracellular vesicles as well as inhibition of APM establishment. GFP vesicles accumulated near the plasma membrane where APM estimated to form. Immunostaining for apical membrane marker AQP5, and apical recycling endosome (ARE) marker Rab11a, showed their colocalization with accumulated GFP vesicles. ARE known to regulate APM formation in the cultured epithelial cell, and Cdc42 likely to regulate ARE transport to establish APM. To examine the mechanisms, we performed immunostaining against actin nucleation factor mDial and Arp3, and found mDial accumulated on the GFP-vesicles. mDial is the effector of RhoA which is one of RhoGTPase, and facilitates linear actin formation. Cdc42 could inactivate RhoA to inhibit the linear actin nucleation on the apical recycling endosome during APM establishment.

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

06-02 唾液腺腺房細胞における分泌タンパク質の調節性および構成性分泌経路への選別機構

○吉垣 純子, 横山 愛, 加藤 治

日大 松戸歯 生理

唾液腺細胞における分泌タンパク質の輸送経路として、分泌顆粒への貯留を経由する調節性経路と、合成後直ちに小胞で分泌される構成性経路が存在する。ゴルジ装置では分泌タンパク質のアミノ酸配列中に存在する何らかのシグナルを認識して、2つの経路に振り分けていることが予想される。我々はこれまで、HaloTag をレポータータンパク質として用い、耳下腺腺房細胞における外来タンパク質の細胞内輸送の解析を行ってきた。HaloTag は細胞膜透過性の蛍光リガンドを添加することによって生細胞内でラベルすることができる。本研究では、HaloTag に唾液タンパク質であるシスタチン D の全長配列を付加した fCst5-Halo と、分泌に必要なシグナルペプチド配列のみを持つ ssCst5-Halo を耳下腺腺房細胞の初代培養細胞に発現させた。最初に TMR リガンドを添加し、それまでに合成された HaloTag 融合タンパク質を全てラベルした。その後、未結合の TMR リガンドを除去してから、時間経過とともに細胞と培地を回収し、もう一つの HaloTag リガンドである AlexaFluor 660 リガンドを添加して新規に合成されたタンパク質のみをラベルした。電気泳動後にバンドの蛍光を計測することにより、細胞内の貯留量と細胞外への分泌量を測定した。Alexa Fluor 660 ラベルされたタンパク質の細胞内貯留量と培地への分泌量を比較したところ、ssCst5-Halo と比較して fCst5-Halo の細胞内貯留量が有意に高く、新規に合成されたタンパク質は分泌顆粒内に効率よく貯蔵されていると予想された。一方、ssCst5-Halo は新規合成されたタンパク質の多くがそのまま構成性に分泌されていた。したがって、シスタチン D のアミノ酸配列の付加が、分泌顆粒への輸送を促進したと考えられる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

06-02 Selective transport of secretory proteins to the regulated and constitutive pathways in salivary acinar cells

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

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo

Salivary acinar cells have two pathways for protein secretion: the regulated and constitutive pathways. Some signals in amino acid sequences of the secretory proteins are recognized in the Golgi apparatus to segregate them to the two pathways. We have studied the mechanism of selective transport by using the HaloTag system. The HaloTag protein can be labeled by a fluorescence dye-conjugated ligand. In this study, we constructed the HaloTag protein fused with a full-length cystatin D (fCst5-Halo) or its signal peptide (ssCst5-Halo) and examined their intracellular transport in the primary culture of parotid acinar cells. First, the cells were labeled with HaloTag TMR ligand to label all the preexisting proteins. After washout of the unbound ligands, cells were cultured for up to 8 h. The medium and cell lysates were recovered and labeled with Alexa Fluor 660 ligand to measure the amounts of newly synthesized proteins that were secreted and stored in the cells. As a result, the amount of the Alexa Fluor 660-labeled fCst5-Halo retained in the cells were significantly higher than ssCst5-Halo, suggesting that the addition of cystatin D sequence promoted the HaloTag protein transport to secretory granules.

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

06-04 明暗・恒暗飼育ラット顎下腺における Aqp5 および Anol1 サーカディアンリズム変動

○佐藤 涼一, 杉原 直樹

東歯大 衛生

【目的】 安静時唾液分泌量は夜間に減少, 日中に増加する日内変動を示すことが報告されている。しかし, 唾液腺末梢時計の存在と唾液分泌リズムを作成する分子的メカニズムは明らかにされていない。本研究は明暗・恒暗飼育ラット顎下腺における水分分泌チャネル Aquaporin5 (Aqp5) およびカルシウム依存性クロライドチャネル Anoctamin1 (Ano1) に着目し, 各飼育環境下における経時的な遺伝子発現解析とタンパク質発現解析からサーカディアンリズムの変化を検討した。

【方法】 4 週齢オスの Wistar ラットを 12 時間毎の明暗環境下で 2 週間順化後, 実験 48 時間前に恒暗環境 (< 1Lux) に移し飼育した。8:00 (ZT0) から 6 時間ごとに 48 時間連続して顎下腺を摘出し total RNA およびタンパクを抽出した。各時刻サンプルはリアルタイム定量 RT-PCR 法と Western Blotting 法にて時計遺伝子および Aqp5, Ano1 の β -actin 発現量に対する相対発現量を計測した。

【結果】 恒暗飼育ラット顎下腺において時計遺伝子 (Bmal1, Per2, Cry1) は明暗環境で飼育したラットと同様に明確な日内変動を示した。Aqp5, Ano1 は明暗環境下, 恒暗環境下の両群にて 24 時間周期の発現リズムを認めたが, 恒暗環境下ではピーク時刻が 6 時間前方シフトしていた。Western Blotting 解析よりタンパク発現においても同様のシフト現象が認められ, Aqp5 と Ano1 の RNA 発現とタンパク発現のピーク時刻は一致していた。

【結論】 顎下腺において異なるイオンチャネルのピーク時刻が一致し, 恒暗環境下でも 24 時間周期の変動を示した結果から Aqp5 と Ano1 は時計遺伝子により発現制御を受ける時計遺伝子制御遺伝子 (CCG) であ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。

06-04 Light conditions affect rhythmic expression of Aquaporin5 and Anoctamin1 in rat submandibular glands

○Sato R, Sugihara N

Dept Publ Health, Tokyo Dent Coll

Purpose: The secretion rates of saliva and electrolytes follow a circadian rhythm as well. However, the relationship between the molecular mechanism of saliva water secretion and the peripheral circadian rhythm in salivary glands is not yet clear. The transmembrane proteins Aquaporin5 (Aqp5) and Anoctamin1 (Ano1) are essential for water transport in the submandibular glands (SGs). The purpose of this study was to reveal the effect of light conditioning on the peripheral clock in SGs.

Methods: We examined temporal mRNA and protein expression patterns among clock genes, Aqp5 and Ano1 under light/dark (LD) and dark/dark (DD) conditions.

Results & Conclusion: We observed circadian rhythmic expression of Bmal1, Per2, Cry1, Aqp5, and Ano1 mRNAs under both LD and DD conditions. The expression levels of Aqp5 and Ano1 peaked 6 h earlier under the DD condition than under the LD condition. Maintenance of the circadian rhythm of Aqp5 and Ano1 expression even under the DD condition indicates that Aqp5 and Ano1 may be controlled by clock genes; such genes are called clock-controlled genes (CCGs). Western blot analysis revealed the circadian oscillation and peak shift of AQP5 and ANO1 expression under DD conditions.

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

O6-05 ヒト唾液腺オルガノイドの唾液腺機能障害研究への有用性○吉本 尚平¹, 安西 寛真^{1,2}, 岡村 和彦¹, 橋本 修一¹¹福歯大 病態構造, ²福歯大 口外

唾液の分泌減少は口腔機能維持の障壁となり得る。唾液分泌障害の要因として、加齢、薬剤性副作用、放射線治療による副作用、慢性炎症や自己免疫疾患等、様々な因子が考えられるが、詳細な機序の解明と治療法の開発が望まれている。本問題の解決に唾液腺組織を形態学的・生理学的に模倣し、評価可能な細胞・器官培養系の樹立が不可欠であると考え、ヒト唾液腺オルガノイド培養系の開発を行った。本病院口腔外科にて摘出された唾液腺組織を酵素処理にて細胞分離後、マトリゲル内に播種し三次元培養を行った。オルガノイドは分枝、分葉状の唾液腺様の構造を示した。加えて、免疫組織化学的にオルガノイドは腺房マーカーであるアクアポリン5、筋上皮マーカーの α SMAおよび唾液腺に発現する各種サイトケラチンに陽性であった。次に、唾液分泌能を検証するため、カルバコール（非特異的コリン作動薬）およびホルスコリン（CFTR活性化因子）を用いたオルガノイド膨張実験を行った。その結果、両薬剤刺激により短時間でオルガノイドの膨張がみられ、唾液の分泌を模した実験系を確立できた。そこで、唾液腺炎で発現のみられる炎症性サイトカインであるTNF- α のヒト唾液腺に与える影響について本系を用いて検討した結果、TNF- α による前処理にてオルガノイドの膨張は抑制された。この際、TNF- α 刺激群では水チャネルであるアクアポリン5の発現減少がRT-qPCR解析および免疫染色にて認められ、TNF- α がアクアポリン5発現を抑制することにより唾液の分泌低下に関与していることが示唆された。以上の結果より、ヒト唾液腺オルガノイド培養法の炎症性障害を想定した*in vitro*解析系における有用性を示すことができ、唾液腺機能障害研究の*in vitro*実験系としての有用性が考えられた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

O6-05 Benefits of the human salivary gland organoids for the research of salivary gland dysfunctions○Yoshimoto S¹, Anzai H^{1,2}, Okamura K¹, Hashimoto S¹¹Div Pathol, Fukuoka Dent Coll; ²Div Oral Surg, Fukuoka Dent Coll

Preservation of saliva secretion is critical for the maintenance of functionally oral homeostasis and finally for keeping good health. However, the mechanisms of these hyposalivation induced by salivary gland dysfunctions remain to be largely unknown. To clarify these problems, we established human salivary gland-derived organoids to analyze the morphological and functional changes of salivary gland dysfunctions *in vitro*. In the inflammatory conditions like sialadenitis, pro-inflammatory cytokines such as tumor necrosis factor- α (TNF- α) are upregulated but the function is still unclear. In our human salivary gland organoid culture system, we successfully induced an organoid swelling revealing the function of saliva secretion by the stimulation of carbachol, a non-selective cholinergic agonist, and forskolin, an activator of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR). Furthermore, we found that this organoid swelling was inhibited by TNF- α . From these results, we could clarify the inhibitory function of TNF- α on the saliva secretion *in vitro*. Thus, our human salivary gland-derived organoid-method was revealed useful in the *in vitro* analysis for an inflammatory damaged model and would be useful as an *in vitro* analysis method in the research field for the salivary gland dysfunctions.

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

P1-01 胎内栄養環境に基づく糖脂質代謝制御とオステオカルシンの関与

○安河内 (川久保) 友世¹, 溝上 顕子¹, 木村 宗惟^{1,2}, 中村 誠司², 自見 英治郎¹, 平田 雅人³

¹九大 院歯 OBT研究セ, ²九大 院歯 顎顔面腫瘍制御, ³福歯大 口腔医学研究セ

近年, 糖脂質代謝と骨代謝に共通して関与する因子の存在が明らかとなり, 生活習慣病と骨代謝の連関が注目されている. 現在までに我々は, 骨基質蛋白質である非(低)カルボキシル化オステオカルシン(GluOC)が, 複数の糖脂質代謝改善作用をもつことを明らかにしてきた.

GluOCは胎盤通過性をもつことから, 本研究では, 胎内における栄養環境とGluOCの存在が仔の将来の生活習慣病発症リスクに及ぼす影響について, マウスを用いた解析を行った.

C57BL/6雌マウスを普通食(ND)摂取群と高脂肪高ショ糖食(HFS)摂取群とに分け, 同週齢のC57BL/6雄マウスと交配させた. さらに妊娠母体に対して, 生理食塩水あるいはGluOCを毎日経口投与し, 生後24日で離乳させた仔マウスを用いた解析を行った.

解析の結果, 妊娠母体のHFS摂取は, 仔肝臓におけるグリコーゲン異化作用に異常をきたす可能性が示唆された. また, 仔自身が離乳以降NDを摂っていれば特に顕著な影響は顕在化しなかったが, 仔が離乳以降HFSを摂取した場合には, 糖脂質代謝異常が誘導されることが示された.

さらに, 妊娠母体のHFS摂取が仔に与える負の影響は, 妊娠中のGluOC摂取により回避された. このことから, 妊娠母体が摂取したGluOCが, 胎盤を通過し直接的に, あるいは母体の糖脂質代謝を正常化することで間接的に, 胎児の糖脂質代謝関連臓器に影響を与えた可能性が示唆された.

非会員共同研究者: 矢野恵奈(九州大・院歯・OBT研究セ)

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P1-01 Control of glucose and lipid metabolism based on fetal nutrition environment and its involvement of osteocalcin

○Kawakubo-Yasukochi T¹, Mizokami A¹, Kimura S^{1,2}, Nakamura S², Jimi E¹, Hirata M³

¹OBT Res Center, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Sect Oral Maxillofac Oncol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ³Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll

Recently the existence of common factors involved in glycolipid metabolism and bone metabolism has been clarified, and the link between lifestyle-related diseases and bone metabolism has been drawing attention. We have demonstrated that bone matrix protein, non (or low)-carboxylated osteocalcin (GluOC) has multiple improving effects of glycolipid metabolism.

Since GluOC has placental transportability, we analyzed the effects of nutritional environment and the presence of GluOC in utero on future risk of developing life-style-related diseases in pups using mice in this study. Pups were weaned at 24 days after birth and analyzed.

As a result, HFS intake of pregnant mothers caused abnormalities in glycogen catabolism in the liver of pups. Moreover, if the pups themselves took ND after weaning, no significant effect was revealed, but it was shown that when the pups took HFS after weaning, abnormal glycolipid metabolism was induced.

Furthermore, the negative effects of maternal HFS intake on pups were avoided by GluOC administration during pregnancy. From this, we suggest that it is possible that maternal GluOC passed through the placenta and directly or indirectly by normalizing maternal glycolipid metabolism, affecting the organs related to glycolipid metabolism.

Non-member collaborator: Ena Yano (OBT Res Center, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ)

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

P1-02 メッケル軟骨前方部に形成される膜性骨の形態学的特徴と役割

○井上 貴一郎¹, 丸岡 春日², 長谷川 智香¹, 山本 恒之¹, 八若 保孝³, 網塚 憲生¹

¹北大 院歯 硬組織発生, ²北大 院歯 矯正, ³北大 院歯 小児障害者

【目的】 メッケル軟骨前方部は軟骨内骨化によって吸収されるが, メッケル軟骨に軟骨内骨化を生じさせる要因については明らかになっていない. また, メッケル軟骨前方部は, 膜内骨化により発生する骨に取り囲まれながらも, 軟骨内骨化により下顎体の一部の骨に置換するとされている. 本研究では, メッケル軟骨前方部を取り囲む膜性骨の形態学的特徴を明らかにするとともに, その構造がメッケル軟骨消失初期に果たす役割について検討した.

【方法】 メッケル軟骨の吸収開始期の胎生 14 日 (E14) から E16.5 までのマウスを 4%PFA で固定し, 頭部の micro-CT (μ CT) 撮影後, 透明骨格標本およびパラフィン標本を作製し, メッケル軟骨前方部を形態学的・免疫組織化学的に解析した.

【結果および考察】 E14.5 では膜性骨がメッケル軟骨前方先端より少し後方の位置で軟骨の外側面と下面を覆い, また, E15 になると上面も覆うため, メッケル軟骨は C 字様の骨で包まれていた. E15.5 から E16 では, 軟骨を一周包み込む骨が μ CT および透明骨格標本により観察された. その部位では, メッケル軟骨の軟骨膜は極めて薄くなり, 一層の軟骨膜の中に直接軟骨と骨組織が接触する像が認められた. その後, E16.5 になると, メッケル軟骨は, 骨と接触している下面と上面, そして前歯歯胚が近接している外側面の 3ヶ所から軟骨内骨化様の吸収を受けていた. 血管新生に関わる VEGF および軟骨基質を分解する MMP-9 陽性反応は, E14.5 では軟骨と骨が接触する部位において認められた. また E16 から E16.5 になると, メッケル軟骨は軟骨内骨化様の吸収が開始されていた. 以上のことから, 胎生期にメッケル軟骨前方部を包んでいる膜性骨は, 長骨の骨襟 (bone collar) と同様の構造学的役割を果たしていると考えられる.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P1-02 Histological characteristics and role of the membranous bone formed in the anterior part of Meckel's cartilage

○Inoue K¹, Maruoka H², Hasegawa T¹, Yamamoto T¹, Yawaka Y³, Amizuka N¹

¹Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ²Dept Orthodont, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ³Dept Dent Child Disabled Person, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

The purpose of this study was to clarify the histological characteristics and role of the membranous bone surrounding the anterior part of Meckel's cartilage during the early stages of the Meckel's cartilage resorption. Histological and immunohistochemical examinations were conducted with murine fetuses at from day 14 (E14) to E16.5. After fixation with 4% PFA, they were subjected to micro-CT analyses, prior to preparation for transparent skeletal specimens and paraffin embedding. Analyses by micro-CT and transparent skeletal specimens demonstrated the membranous bone surrounding the anterior part of the Meckel's cartilage of E15.6-E16 fetuses. The perichondrium of the anterior part became extremely-thinned enough to make direct contact of cartilage and bone. At the stage of E16.5, the upper, lower and outer surfaces of the anterior part of Meckel's cartilage were resorbed by a manner like endochondral ossification. Immunoreactivities of VEGF and MMP9, which are involved in angiogenesis and degradation of cartilage matrix, respectively, were seen at the contact sites of cartilage and membranous bone early from E14.5. Taken together, it seems likely that membranous bone encompassing the anterior part of Meckel's cartilage appears to correspond to bone collar of long bones from the histological point of view.

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

P1-03 G9a は Runx2 の機能調節を介してマウス頭蓋の骨形成を制御する○出野 尚¹, 小松 浩一郎¹, 中島 和久¹, 新井 嘉則², 二藤 彰¹¹鶴大 歯 薬理, ²日大 歯 放射線

G9a はヒストン H3, 9 番リジンをジメチル化するヒストンメチル化酵素として同定されたが, 転写因子など非ヒストンタンパク質の修飾を介した制御などの多様な機能を持つ事が明らかになってきた. 我々は骨格形成における G9a の機能を調べる目的で作出した Sox9-Cre;G9a flox/flox (G9a-cKO) マウスの解析を進めてきた. その中で頭蓋骨形成過程において G9a による Runx2 の機能制御が重要である可能性を見出したので報告する. 我々の作出した G9a-cKO マウスは胎生期および生後 3 週齢で頭蓋骨の形成不全と大泉門の開存が認められ, それは Runx2 ヘテロマウスと類似していた. G9a-cKO マウス頭蓋骨では, 細胞増殖と Alp, Osteocalcin の遺伝子発現が低下したにもかかわらず, Runx2 の遺伝子発現は低下しなかった. この事から前駆細胞や骨芽細胞の増殖・分化における Runx2 の機能低下が予想された. そこで in vitro で G9a fl/fl マウス由来初代骨芽細胞と Cre 発現アデノウイルスを用いて G9a-KO 骨芽細胞を作出し詳細な解析をおこなった. in vivo と同様に G9a-KO 骨芽細胞の増殖はコントロールに比べ顕著に抑制され, Alp, Osteocalcin の遺伝子発現は低下し, Runx2 の遺伝子発現に変化はなかった. そこで Osteocalcin プロモーター Luc を用いて Runx2 の転写活性化能を調べると G9a 存在下では亢進し, G9a ノックダウンにより抑制した. また, 抗 G9a 抗体, 抗 Runx2 抗体による共免疫沈降法では内在性の G9a と Runx2 が核画分で結合する事, 抗 G9a 抗体, 抗 Runx2 抗体によるクロマチン免疫沈降法では Runx2 の標的である Osteocalcin や Fgfr 遺伝子の発現調節領域に G9a と Runx2 が結合する事が分かった. さらに G9a-KO 骨芽細胞では Osteocalcin の発現調節領域で Runx2 の結合の低下が認められた. これらの結果から, G9a は Runx2 と結合して Runx2 の転写活性化能を調節する事でマウス頭蓋骨形成を制御する可能性が示唆された.

【共同研究者】立花 誠 (大阪大), 眞貝洋一 (理研), 木村 宏 (東工大)

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P1-03 G9a regulates mouse cranial bone formation through Runx2 function○Ideno H¹, Komatsu K¹, Nakashima K¹, Arai Y², Nifuji A¹¹Dept Pharmacol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Dept Oral Maxillofac Radiol, Nihon Univ Sch Dent

G9a was identified as a H3K9 methyltransferase. Recent studies have revealed that G9a has multiple functions such as regulation of gene expression through modification of non-histone proteins. In this study, we analyzed G9a-flox/flox;Sox9-Cre (G9a-cKO) mice to elucidate the function of G9a in cranial bone formation. G9a-cKO mice showed the defects in mineralization of calvarial bone at E16.5, P0 and P27. Expression of alkaline phosphatase (Alp) and osteocalcin was decreased in calvarial bone of G9a-cKO mice, whereas expression of Runx2 was not affected. We also generated G9a-knockout osteoblasts (G9a-KO OB) using Cre-recombinase expressing adenovirus in vitro. Proliferation of G9a-KO OB was inhibited. Expression of Alp and osteocalcin were decreased, whereas Runx2 expression was not changed. Luciferase assay using osteocalcin promoter showed that G9a enhanced transcriptional activity of Runx2, whereas siRNA targeting G9a inhibited transcriptional activity of Runx2. Co-immunoprecipitation (IP) using wild type primary OB shows the direct association of endogenous Runx2 with G9a proteins. Chromatin IP with anti-Runx2 and anti-G9 antibodies showed that G9a bound to Runx2 target regions of osteocalcin and Fgfrs. Runx2 binding to the osteocalcin promoter was reduced in G9a-KO OB. These results suggest that G9a regulates proliferation and differentiation of cranial bone cells through activation Runx2 function.

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

P1-04 転写因子 TBX1 は頭蓋底軟骨結合発生において RUNX2 下流シグナルを調節する

○船戸 紀子^{1,2}, 柴田 俊一³

¹医科歯科大 院医歯 シグナル遺伝子制御, ²医科歯科大 リサーチコア, ³医科歯科大 院医歯 顎顔面解剖

【目的】 T-box 型転写因子をコードする *TBX1* は, 22q11.2 欠失症候群の疾患遺伝子である。頭蓋底軟骨結合は頭蓋の前後の伸張に関わるが, *Tbx1* 遺伝子欠損マウスでは, 蝶形後頭軟骨結合特異的に早期癒合を認める。そこで, 頭蓋底軟骨結合の発生における TBX1 の役割を解明するため, 軟骨結合における TBX1 の発現および転写制御ネットワークを解析した。

【方法】 各種 *Tbx1* コンディショナルノックアウトマウス, リポーターマウスを用いて, 頭蓋底軟骨結合の表現型解析を行った。また, 蝶形後頭軟骨結合発生異常を示す遺伝子改変マウスの遺伝子でパスウェイ解析を行った。さらに, 骨由来細胞株のマイクロアレイデータを用いて各種遺伝子発現量の相関について解析を行い, それらの結果をプロモーターアッセイ, Proximity Ligation Assay, 免疫沈降法, *Tbx1* コンディショナルノックアウトマウスの発現解析により確認した。

【結果】 頭蓋の中胚葉に発現する *Tbx1* が, 蝶形後頭軟骨結合の正常な発生に必須であることが分かった。また, 疾患遺伝子のパスウェイ解析により, 蝶形後頭軟骨結合の発生に RUNX2 シグナル経路の重要性が示唆された。さらに, TBX1 が RUNX2 の転写活性を抑制して RUNX2 下流シグナルを調節することが *in vitro* および *in vivo* の系より明らかとなった。

【結論】 *Tbx1* は中胚葉由来組織に発現し, 頭蓋底軟骨結合の一つ, 蝶形後頭軟骨結合の軟骨細胞分化を特異的に調節していることが分かった。その際, TBX1 が RUNX2 下流シグナルを調節していることが示唆された。

【非会員共同研究者】 Deepak Srivastava, Hiromi Yanagisawa

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-04 TBX1 regulates chondrocyte maturation in the spheno-occipital synchondrosis through TBX1-RUNX2 axis

○Funato N^{1,2}, Shibata S³

¹Dept Signal Gene Regul, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ; ²Res Core, Tokyo Med Dent Univ;

³Dept Maxillofac Anat, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ

The synchondrosis in the cranial base is an important growth center for the craniofacial region. Abnormalities in the synchondroses affect the development of adjacent regions, including the craniofacial skeleton. Here, we report that the transcription factor TBX1, the candidate gene for 22q11.2 deletion syndrome, is expressed in mesoderm-derived chondrocytes and plays an essential and specific role in spheno-occipital synchondrosis (SOS) development by inhibiting the expression of genes involved in chondrocyte hypertrophy and osteogenesis. In *Tbx1*-deficient mice, SOS was completely mineralized at birth. TBX1 interacts with RUNX2 and suppresses its transcriptional activity. Indeed, deleting *Tbx1* triggers accelerated mineralization due to accelerated chondrocyte differentiation, which is associated with ectopic expression of downstream targets of RUNX2 in the SOS. These findings reveal that TBX1 acts as a regulator of chondrocyte maturation and osteogenesis during the SOS development. Thus, the tight regulation of endochondral ossification by TBX1 is crucial for the normal progression of chondrocyte differentiation in SOS. (Non-Member Collaborators: Deepak Srivastava and Hiromi Yanagisawa)

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

P1-05 軟骨細胞におけるレチノイン酸シグナルの機能解析

○内部 健太, 寺山 隆司

広大院医系科学 顎顔面解剖

【目的】 ビタミン A は軟骨細胞分化を強力に阻害する因子として知られているが、その詳細なメカニズムについてはいまだ不明な点が多く残されている。そこで本研究では、ビタミン A の代謝産物であるレチノイン酸が、軟骨細胞の分化や成熟、またその機能においてどのような役割を担っているかを解析することを目的とした。

【方法】 レセプターサブタイプ特異的なアゴニストを用いて初代培養軟骨細胞や間葉系幹細胞の分化や機能に与える影響、およびアゴニスト投与によるマウスの成長に与える影響を検討した。遺伝子発現解析には定量 PCR ならびに RNA-seq を用いた。動物実験では軟エックス線、 μ CT による解析に加え、免疫組織化学等の組織学的検討を行った。

【結果】 未分化な細胞の軟骨細胞分化においては、3つの受容体サブタイプのうち、RAR α とRAR γ が強力な抑制効果を示した。またこれに伴って軟骨基質の産生も低下した。一方でRAR β アゴニストは比較的軽微な影響であった。マウスへの投与では、RAR γ アゴニストにより成長の阻害が見られ、成長板の早期閉鎖が生じていることが分かった。遺伝子発現解析では、RAR γ アゴニストによって軟骨細胞の初期分化マーカーの発現レベルが低下している一方、MMP等の成熟期マーカーは上昇していることが明らかとなった。

【考察】 RAR γ アゴニストのマウスへの投与で見られた成長板の早期閉鎖は、未分化細胞の軟骨細胞への分化を抑制することに加え、分化した軟骨細胞の成熟を促進させることが影響している事が示唆された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-05 Roles of retinoic acid signaling in chondrocytes

○Uchibe K, Terayama R

Dept Maxillofac Anat Neurosci, Grad Sch Biomed Health Sci, Hiroshima Univ

Vitamin A is known as a potent inhibitor of chondrogenesis, however, the underlying mechanisms are still unclear. In this study, we investigated the function of retinoic acid (RA), an active metabolite of vitamin A, in chondrogenic differentiation of cells and skeletal development. We examined the effect of specific agonists of retinoic acid receptors (RARs) on chondrogenic differentiation of ATDC5 and C3H10T1/2 cells. Subtype-specific RAR agonists as well as RA decreased the expression levels of chondrogenic differentiation marker genes and inhibited chondrogenic differentiation, which was accompanied with morphological change to spindle-shaped cells. Among RAR agonists, RAR α and RAR γ agonists revealed a strong inhibitory effect on chondrogenic differentiation. RAR α and RAR γ agonists also hampered viability of ATDC5 cells. In vivo experiments revealed that RAR γ agonist causes early closure of growth plate, resulting in altered skeletal development. These observations suggested that RAR α and RAR γ are dominant receptors of RA signaling in cartilage that negatively regulate chondrogenic differentiation.

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

P1-06 BMP-9 骨分化誘導シグナル伝達における転写因子 Egr-1 の重要な役割

○千葉 紀香, 成 昌奂, 大西 智和, 松口 徹也

鹿大 院医歯 口腔生化

【目的】 トランスフォーミング増殖因子 (TGF- β) ファミリーサイトカインである骨形成因子 (BMPs) は強い骨形成促進作用を及ぼすサイトカインであり, 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骨再生療法への更なる効果的な臨床応用への期待が高まっている. BMP ファミリーのうちでも BMP-9 は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の詳細など作用機構については未だ不明な点が多い. 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. 今回, 骨芽細胞内の 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 を用いたノックダウン, Tet-On システムを用いた強制発現系などを利用して, そのアウトプットをリアルタイム PCR 法やウエスタンブロットティング法を用いて解析した.

【結果】 MC3T3-E1 での Egr-1 の発現は BMP-9, AA2P のどちらの刺激によっても, 分化の初期段階で一過性に上昇することが確認できた. また, その一過性の Egr-1 の発現上昇を siRNA によりノックダウンすると, 通常確認される BMP-9 誘導性の骨芽細胞分化マーカーの発現が抑制された. さらに, Tet-On システムを用いて Egr-1 を強制発現させると, いくつかの重要な骨芽細胞分化マーカーの発現が分化初期段階において BMP-9 単独刺激に比較して有意に上昇していたが, 興味深いことにそこには選択性がみられた.

【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, 骨芽細胞分化マーカー遺伝子の発現を選択的に上昇させ, 調節因子として重要な役割を果たしていることが示唆された.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P1-06 An important role of Egr-1 in BMP-9-induced osteoblast differentiation

○Chiba N, Seong CH, Ohnishi T, Matsuguchi T

Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

Object: Bone morphogenic protein (BMP) family belongs to TGF superfamily, which induces osteogenesis including osteoblast differentiation and bone development, thereby BMP are thought as a new and powerful tool for regenerative therapy for bone defect such as periodontitis. BMP-9 is the strongest BMP regarding osteogenesis, however, the detail of signaling pathway is not fully elucidated. We have recently found that early growth response protein 1 (Egr-1) gene expression in osteoblast is strongly induced in response to BMP-9. Here, we have investigated the 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 osteoblast differentiation medium including ascorbic acid and beta-glycerophosphate 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 detected by Western blotting.

Result: Egr-1 gene expression was induced transiently at the early stage of osteoblast differentiation induced by ODM as well as BMP-9 stimulation. Egr-1 knockdown by siRNA suppressed BMP-9-induced osteogenic marker genes, whereas inducible Egr-1 overexpression enhanced several BMP-9-induced osteogenic marker genes.

Conclusion: Egr-1 is induced by BMP-9 transiently and plays an important role in osteoblast differentiation.

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

P1-07 低酸素誘導因子 Hif-1 α 蛋白は骨芽細胞の BMP9 刺激により早期に誘導され、解糖系酵素 PDK1 の発現を介して骨芽細胞分化に重要な役割を果たす

○松口 徹也¹, 千葉 紀香¹, 成 昌奂^{1,2}, 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】 低酸素によって誘導される転写因子 Hif-1 α は低酸素下における血管新生や解糖などの調節因子として知られるが、骨格形成においても重要な役割を果たすことが報告されている。今回 BMP (骨形成タンパク質) の骨誘導作用における Hif-1 α の役割を明らかにするため、BMP9 による骨芽細胞分化誘導における Hif-1 α の発現パターンとそ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 および 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 反応性の各種遺伝子発現誘導パターンを解析した。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 の転写量増加を伴わず、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。特異的 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 の誘導には影響を与えなかった。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】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-07 Hif-1 α protein is rapidly increased by BMP9 and is important in osteoblast differentiation by inducing a glycolytic enzyme, PDK1

○Matsuguchi T¹, Chiba N¹, Seong CH^{1,2}, Ohnishi T¹

¹Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci; ²Dept Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

OBJECTIVE: BMPs regulate bone tissue regeneration. Hif-1 α is a well-established hypoxia-responsive transcription factor inducing angiogenesis and glycolysis. Here, we investigated the functional roles of Hif-1 α in BMP-induced osteoblast differentiation process.

RESULTS: Hif-1 α protein expression was significantly induced by both BMP9 and BMP2 in mouse osteoblasts within 2 hours under normoxia. 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 osteoblasts. 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 known as 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 author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

P1-08 Annexin A5 欠損マウスでは腱・靭帯付着部 (enthesis) の石灰化が促進される

○小松 浩一郎¹, 出野 尚¹, 新井 嘉則², 和田 悟史³, 中島 和久¹, 山下 照仁⁴, 二藤 彰¹

¹鶴大 歯 薬理, ²日大 歯, ³鶴大 歯 矯正, ⁴松歯大 総歯医研 硬組織疾患制御再建

アネキシン A5 (Anxa5) は、細胞膜裏打ちタンパク質として多彩な機能が報告されており、筋骨格組織では関節軟骨、骨膜、および骨と腱・靭帯付着部に強く発現するが、そこでの機能については不明な点が多い。Annexin A5 欠損 (Anxa5^{-/-}; KO) マウスは発生期ならびに出生直後においては、筋・骨格系組織含めて大きな変化は認められない。ところが、我々は Anxa5 KO マウスは生後 7 週以降に、野生 (WT) 型に比べて腱・靭帯の骨への付着部の肥大、しかも石灰化の亢進を見出した。この表現型は脛骨、大腿骨、上腕骨、下顎骨など、調べた骨でいずれも同様に認められた。Anxa5 KO マウスの骨格系組織の変化が発生・出生直後には無く、成長するに従って変化が認められることから、表現型について力学的負荷の関与が想定された。そこで、力学的負荷の軽減を図る 2 つのアプローチを行った。まず、前脛骨筋の腱組織を切除することで、骨への付着部への力学的負荷を軽減し、その影響を調べたところ、Anxa5 KO マウス、WT マウスともに同部位の大きさが減少していた。さらに、別のアプローチとして尾部懸垂によって下肢への力学的負荷を減少させた場合も同様に Anxa5 KO マウス、WT マウスともに骨への付着部の石灰化が減少していた。これらのことは、筋張力誘導性の力学的負荷を介して、Anxa5 が腱・靭帯の骨への付着部の石灰化を制御することを示唆する。さらに、石灰化制御のメカニズムを調べるため、腱・靭帯の骨への付着部を構成する腱細胞、軟骨細胞、骨芽細胞における Anxa5 ノックダウンを試みた。軟骨細胞では、Anxa5 ノックダウンにより、石灰化制御に関わる分子 Ank、Enpp1 の発現が低下した。以上のことから Anxa5 は石灰化制御因子の制御を介して、腱・靭帯付着部の石灰化を負に制御する可能性が示唆された。【演者外共同研究者】江面陽一 (帝京大・医療技術)

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-08 Annexin A5 KO promotes the mineralization of tendon/ligament entheses

○Komatsu K¹, Ideno H¹, Arai Y², Wada S³, Nakashima K¹, Yamashita T⁴, Nifuji A¹

¹Dept Pharmacol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Nihon Univ Sch Dent; ³Dept Orthodont, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ⁴Div Hard Tissue Res, Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

Annexin A5 (Anxa5) reportedly exhibits diverse functions as cell membrane lining protein. Anxa5 is highly expressed in the entheses of tendons and ligaments. However, little is known about the function. Here, we report that Anxa5 plays a critical role in the regulation of bone ridge outgrowth at the entheses. In the KO mice, the sizes of bone ridge outgrowths at the entheses of the tibias and femur were increased after age 7 weeks. More ALP-expressing cells were observed in the entheses in the KO than in wild type (WT) mice. Bone labeling revealed more mineralized areas in the KO than WT mice. To examine the effects of mechanical forces, we performed tenotomy and tail-suspension operations in both KO and WT mice. The bone overgrowth at the entheses in the KO mice was decreased to a level comparable to that in the WT mice 8 weeks after the operation. We further examined effects of Anxa5 gene knockdown (KD) in primary chondrocytes. Anxa5 KD increased ALP expression, and decreased mineralization regulating factors, ANK and Enpp1 expressions. These findings suggest that Anxa5 negatively regulates the mineralization of the entheses through mechanical forces and/or mineralization regulating factors.

Other author: Y. Ezura (Teikyo Univ)

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

P1-09 卵巣摘出マウスの長骨骨幹端修復過程に対するエストロゲン短期投与の効果

○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】 エストロゲン欠乏は長骨骨幹端領域の骨量を減少させ、骨折発生率が増加する要因である。しかし骨粗鬆症モデルにおける長骨骨幹端の治癒過程は明らかとなっていない。本研究では卵巣摘出 (OVX) マウスの脛骨骨幹端および骨幹部の修復過程を解析し、さらにエストロゲン (E2) の短期投与の効果について検討した。

【材料および方法】 雌マウスの卵巣摘出 (OVX) 群, Sham 群と OVX+Vehicle (Veh) 群と OVX+E2 (E2) 群にわけ、右脛骨骨幹端、左脛骨骨幹部に骨損傷を作製し、修復過程を解析した。骨損傷作製後、Veh 群はプロピレングリコール、E2 群は E2 を連日投与した。

【結果】 Sham および OVX 群の骨幹端では骨膜性仮骨は形成されなかったが、骨幹部では両群とも認められた。両部位の骨髄内仮骨は Sham 群では 7 日目、OVX 群では 14 日目がピークであったが、OVX 群ではその形成量が著しく少なかった。骨孔部の BMD は、骨幹端では 14 日目まで Sham 群が高い値を示していたが、21 日目には差がなくなった。骨幹部では 28 日目でも OVX 群の方が低値であった。骨髄における Gr-1 陽性細胞は、Sham 群と比較して、OVX 群では残存する期間が長かったが、両群ともに骨幹端は骨幹部よりも早期に認められなくなった。E2 群では、骨幹部の骨髄内仮骨が Veh 群と比較して多く形成されたが、骨幹端では E2, Veh 群ともにほとんど形成されていなかった。

【考察】 本研究の結果から長骨骨幹端と骨幹部では卵巣摘出時の影響が異なることが明らかとなった。E2 に対する反応も両部位では異なり、損傷部に存在する細胞の感受性が異な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。

P1-09 The effect of short-term estrogen administration on the repair process of metaphysis in ovariectomized mice

○Inoue S, Fujikawa K, Fukushima M, Nakamura M

Dept Oral Anat Dev Bio, Sch Dent, Showa Univ

Estrogen deficiency leads to bone loss and increases fracture incidence in the metaphysis region. However, the repair process of metaphysis in the osteoporosis model is still unclear. In this study, we analyzed repair process between metaphysis and diaphysis of ovariectomized and control mice, and the effect of short-term estrogen administration. Mice were divided into four groups: Sham group and ovariectomy (OVX) group, OVX + vehicle (Veh) group and OVX + E2 (E2) group. The periosteal callus was not formed at the metaphysis of Sham and OVX group, while periosteal callus formation was observed in the diaphysis. The volume of medullary callus in OVX was lower than that in sham groups. In the metaphysis, BMD was higher in Sham group than OVX group at day 14. In diaphysis, BMD was higher in Sham group than OVX group until day 28. In E2 groups of the diaphysis, the amount of medullary callus was higher than Veh group at day 7, 14. However, in the metaphysis of both groups, a little amount of medullary callus was observed. These results suggested that the effect of ovariectomy and E2 administration on bone repair process differed depending on bone site.

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

P1-10 骨芽細胞特異的な骨改造制御膜表面分子の同定と機能解析

○日浦 秀暢^{1,2}, 久本 由香里², 上原 範久², 張 旌旗², 顧 炯炎², 山座 孝義²,
久木田 明子³, 高橋 一郎¹, 久木田 敏夫²

¹九大 院歯 矯正, ²九大 院歯 矯正, ³佐賀大 医 微生物

【目的】骨改造開始点に破骨細胞が出現し骨吸収を始めることにより骨改造が始まるが、骨改造の明確な「開始点」については不明の点が多い。骨改造制御に関与すると考えられる新規骨芽細胞特異的膜表面分子（A7 抗原）を見出した。今回、A7 抗原を質量分析により同定するとともに機能解析を行うことを目的とした。【方法】1) ラット骨肉腫細胞株 ROS17/2.8 細胞クローンの細胞膜表面蛋白質をビオチン化し RIPA バッファーを用いて可溶化した。抗 A7 抗原特異的モノクローナル抗体（A7Mab）を Dynabeads Protein G に結合させたものに可溶化物を結合させ、十分に洗浄後、免疫沈降された膜表面蛋白質を SDS-PAGE 後、メンブレンに転写し、ストレプトアビジン-HRP を用いて抗原を検出した。2) 1) と同様に免疫沈降を行い、免疫沈降物をトリフルオロ酢酸（TFA）により溶出し、SDS-PAGE 後、質量分析用の銀染色を施した。検出されたバンドについて質量分析を行った。3) 新生仔ラット頭蓋冠由来の初代骨芽細胞を通法により調製し、質量分析によって同定された膜表面分子の発現を PCR およびウェスタンブロッティング法により解析した。4) 3) と同様に調製した骨芽細胞についてアルカリ環境の石灰化制御への関与を検討した。【結果と考察】質量分析により推定された候補分子の一つとして膜表面分子 Insulin Receptor-Related Receptor（IRR）を同定した。ウェスタンブロッティング法および PCR 解析により IRR が新生仔ラット頭蓋冠由来の初代骨芽細胞が発現する膜表面蛋白質であることを確認した。IRR はアルカリセンサーの機能を有することが知られており、骨芽細胞においてもアルカリセンサーとして機能する可能性が考えられる。本研究により、骨芽細胞が特異的に発現する IRR が石灰化を制御する可能性を有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。

P1-10 Identification and functional analysis of the osteoblast-specific membrane protein possibly involved in the fine regulation of bone remodeling

○Hiura H^{1,2}, Kyumoto Y², Uehara N², Zhang JQ², Gu JY², Yamaza T², Kukita A³, Takahashi I¹,
Kukita T²

¹Sect Orthod Dentofac Orthop, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Sect Orthod Dentofac Orthop, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ³Div Microbiol, Fac Med, Saga Univ

Purpose: Initiation of bone remodeling is thought to be associated with the appearance of osteoclasts at the specific sites of bone surface, however, details are still ambiguous concerning the exact entity of Initiation points of bone remodeling. We have recently found a novel osteoblast-specific cell-surface molecule (A7 antigen), which could be involved in the regulation of bone remodeling. The aim of this study is to identify the unique cell-surface antigen.

Methods: Rat osteosarcoma cell line ROS17/2.8 cells (clone#7) was cultured and cell-surface proteins were analysed. Immuno-precipitated proteins prepared using A7 Mab were analyzed by MASS spectrometry after SDS-PAGE and silver staining. Expression of candidate molecules were analyzed by rtPCR and western blotting in calvaria-derived primary osteoblasts.

Results and Discussion: As a candidate cell-surface molecule for A7 antigen, membrane molecule Insulin Receptor-related Receptor (IRR) was identified. Western blotting and rtPCR analysis confirmed that IRR was actually expressed in primary osteoblasts. As IRR is known to have function of alkali sensor, osteoblastic function could be regulated by the alkaline microenvironment in bone surface. The present study suggests that IRR specifically expressed in osteoblasts play an important role in the fine regulation of bone remodeling.

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

P1-11 プロポフォールの継続刺激は RAW264.7 細胞の破骨細胞への分化と骨吸収関連因子の発現を抑制する

○里見 ひとみ^{1,2,3}, 岡 俊一^{1,3}, 田中 秀樹^{2,4}, 中井 久美子^{2,4}, 川戸 貴行^{2,4}

¹日大 歯 麻酔, ²日大 歯 衛生, ³日大 歯 総歯研 生体防御, ⁴日大 歯 総歯研 機能形態

【緒言】プロポフォール (PF) は静脈内鎮静や全身麻酔時の静脈麻酔薬として頻用され, その投与期間は, 処置内容や投与目的で様々である. 破骨細胞は, 骨芽細胞やリンパ球が産生する RANKL の存在下で単核の破骨細胞前駆細胞が融合することで形成され, 骨リモデリングにおける骨吸収の中心的役割を担う. 本研究では, 破骨細胞前駆細胞として RAW264.7 を種々の期間 PF で刺激して, 破骨細胞様細胞への分化, ならびに細胞融合と骨吸収に関連する因子の発現に及ぼす PF の影響を調べた.

【方法】RAW264.7 を 50 ng/ml RANKL を含有する培地で 4 日間, 培養した. 細胞を刺激する PF 濃度は臨床での使用を参考に 0 (Control), 10, 20, 30 μ M, 刺激期間は 5 時間, 1.5 日, 4 日とした. なお, 刺激期間 5 時間と 1.5 日では, 刺激後 PF を含まない培地で培養を継続した. 破骨細胞様細胞の形成は酒石酸耐性酸フォスファターゼ染色で, 細胞融合因子である DC-STAMP と OC-STAMP, 骨吸収関連因子であるカテプシン K (CK), マトリックスメタロプロテアーゼ 9 (MMP9) および炭酸脱水酵素 II 型 (CAII) の発現は real-time PCR 法または Western blotting 法で調べた.

【結果】破骨細胞様細胞の形成は, 刺激期間 1.5 日と 4 日後で PF の濃度依存的に抑制された. 刺激期間 1.5 日と 4 日の OC-STAMP, DC-STAMP, CK および CAII の発現は Control に比べて PF 刺激で減少し, MMP9 の発現に差は認められなかった. また, 刺激 5 時間では, PF はこれらの因子の発現と破骨細胞様細胞の形成に影響しなかった.

【考察】DC-STAMP と OC-STAMP は破骨細胞前駆細胞の受容体に RANKL が結合後に発現が増加し, 細胞の融合を促進する. CK は骨有機質を分解し, CAII は無機質を溶解するプロトンの産生に関与する. これらの知見と本研究結果から, PF は, その刺激が数日に及ぶと破骨細胞の分化と骨吸収機能を抑制するが, 数時間では破骨細胞性骨吸収に影響を及ぼさないないと考えられた.

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する.

P1-11 Continuous stimulation of propofol suppresses osteoclast differentiation and the expression of bone resorption-related factors in RAW264.7 cells

○Satomi H^{1,2,3}, Oka S^{1,3}, Tanaka H^{2,4}, Nakai K^{2,4}, Kawato T^{2,4}

¹Dept Anesthesiol, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Oral Health Sci, Nihon Univ Sch Dent; ³Div Immunol Pathobiol, Dent Res Center, Nihon Univ Sch Dent; ⁴Div Funct Morphol, Dent Res Center Nihon Univ Sch Dent

The dose time of propofol, which is an intravenous anesthetic agent, varies by treatment contents and the dose purpose. Osteoclasts are formed by cellular fusion from osteoclast precursors in the presence of RANKL. In this study, we examined the effects of propofol on osteoclastogenesis and the expression of cell fusion factors and bone resorption-related factors using RAW264.7 cells.

RAW264.7 cells were exposed to 0(control), 10, 20, 30 μ M propofol for 5 hours, 1.5 days or 4 days in the presence of RANKL. After exposing for 5 hours and 1.5 days, cells were cultured with RANKL until day 4 of culture.

Osteoclastogenesis and the expression of OC-STAMP, DC-STAMP, Cathepsin K (CK), and Carbonic anhydrase II (CAII) significantly decreased in cells stimulated with propofol for 1.5 days and 4 days as compared to control cells. Propofol did not affect these expressions and osteoclastogenesis in cells stimulated for 5 hours.

DC-STAMP and OC-STAMP promote cell fusion, and CK and CAII are involved in dissolve of organic and inorganic component of bone, respectively. Our results suggest that continuous propofol administration for a few days would suppress osteoclast differentiation and bone resorption, but there was less effect in that for a few hours.

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

P1-12 骨吸収および炎症性骨破壊における破骨細胞形成と細胞膜ナノチューブの関与

○張 旌旗¹, 顧 炯炎¹, 久本 由香里¹, 久木田 明子², 張 曉旭³, 上原 範久¹, 日浦 秀暢^{1,4}, 山座 孝義¹, 久木田 敏夫¹

¹九大 院歯 分子口腔解剖, ²佐賀大 医 微生物, ³九大 院歯 インプラント, ⁴九大 院歯 矯正

【目的】本研究は齧歯類の生体内における骨吸収および炎症性骨破壊を引き起こす破骨細胞形成への細胞膜ナノチューブ (TNT) の関与について検討した。リウマチ関節炎や歯周病等の疾患では、炎症性因子の刺激により破骨細胞が異常に増加し、激しい骨破壊を引き起こす。それゆえ、破骨細胞の病的な形成を制御する方法の開発が必要となっている。我々はこれまで TNT が破骨細胞形成における破骨細胞前駆細胞どうしの特異的融合に重要な役割を演じていることを報告した。今回は、マウスの骨髓細胞から分化された破骨細胞による骨吸収への TNT の関与を SEM で解析するとともに、生体内での破骨細胞形成における TNT の関与を検討した。【方法】マウスの大腿骨から骨髓細胞を採取し、象牙質片上で培養する。RANKL および M-CSF の刺激下で破骨細胞に分化させた後、破骨細胞における TNT の形成について SEM で解析した。また、アジュバント関節炎ラットの距腿関節の凍結切片を作製し、蛍光抗体法によりカテプシン K 陽性の破骨細胞とアクチン陽性の TNT の二重染色を行い、蛍光顕微鏡にて観察した。【結果と考察】RANKL および M-CSF の刺激で破骨細胞前駆細胞に分化した破骨細胞の間に TNT の形成を認めた。TNT は分子を輸送するのみならず、細胞内小器官、核等の移動を通して、破骨細胞前駆細胞から多核破骨細胞へ融合する可能性を示唆する所見が得られた。更に象牙質片上に播種した破骨細胞は破骨細胞の間および破骨細胞前駆細胞との間に TNT の形成を認めた。加えて破骨細胞による吸収窩の形成も観察された。アジュバント関節炎ラットの骨破壊組織においては、破骨細胞の間にカテプシン K 陽性且つアクチン陽性の TNT が存在することを見出した。本研究は骨吸収および炎症性骨破壊の場において TNT が破骨細胞の形成に関与することを示唆した。TNT の形成を制御することによって新規骨破壊制御法の開発が可能になると考えられる。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-12 Involvement of membrane nanotubes and osteoclasts formation in bone resorption and inflammatory bone destruction

○Zhang JQ¹, Gu JY¹, Kyumoto Y¹, Kukita A², Zhang X³, Uehara N¹, Hiura H^{1,4}, Yamaza T¹, Kukita T¹

¹Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Div Microbiol, Fac Med, Saga Univ; ³Sect Implant Rehabil Dent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ⁴Sect Orthod Dentofac Orthop, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

This study aimed to investigate the involvement of membrane nanotubes (TNT) and osteoclasts formation in bone resorption and inflammatory bone destruction in rodents. In rheumatoid arthritis and periodontal disease, osteoclasts increased by stimulation of inflammatory factors, cause severe bone destruction. Development of a method for controlling osteoclasts has become important. In this study, we evaluate the TNT formation of osteoclasts and bone resorption in mouse bone marrow cells differentiated osteoclasts. We also analyzed the TNT formation in bone destruction of adjuvant arthritis (AA). Mouse bone marrow cells were collected and differentiated into osteoclasts. The morphology of osteoclasts, TNT and resorption lacunas were observed by SEM. Cryosections of AA rats were prepared for immunostaining of osteoclasts and TNT. Primary cells derived from mouse bone marrow were cultured, differentiated into osteoclast. The TNT formation was confirmed between osteoclast precursors. It was observed that osteoclasts adhered to the dentin surface and formed resorption lacunas. Osteoclasts and TNT were also observed in the bone-disrupted tissues. TNT is involved not only in molecular transporting but also in migration of intracellular organelles, nuclei, and fusion to multinucleated osteoclasts. Thus, TNT regulates the osteoclasts formation, and it was suggested to be as a target for drug discovery.

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

P1-13 反射電子像を利用した走査型電子顕微鏡による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、その立体形態については不明な点が多い。我々は破骨細胞に酵素細胞化学を施した後、準超薄連続切片を作成し走査型電子顕微鏡によりゴルジ装置の反射電子像を検出した。得られた像からコンピューターを使ってゴルジ装置を立体復構し立体形態について考察した。

【材料と方法】 8週齢雄性ラットを灌流固定し大腿骨遠位端を摘出した。EDTA脱灰後に厚さ200-300 μ mの矢状断スライスを切り出し、ゴルジ装置の特異的酵素であるNADPase (nicotinamide adenine dinucleotide phosphatase)を鉛法 (Smith 1980)により検出した。脱水,エポン812包埋後、矢状方向に超薄切片および厚さ0.5 μ mの準超薄連続切片を作成した。走査型電子顕微鏡により、各々の準超薄切片で一次骨梁に存在する破骨細胞の反射電子像を検出した。それらの像からゴルジ装置、核、及び波状縁をコンピューター (ImageJ/Fiji)により立体復構した。

【結果と考察】 透過型電子顕微鏡により破骨細胞のゴルジ装置に鉛が特異的に沈着することを確認した。走査型電子顕微鏡ではゴルジ装置に一致して核周囲に強い反射電子のシグナルを認めた。ゴルジ装置、核、及び波状縁の復構像の全体、および断面をさまざまな角度から観察・検討した結果、以下のことが示唆された。1) ゴルジ装置はほぼ連続した網状の形態を呈し複数の核を一括して籠様に取り囲む。2) 籠様構造の内部ではさらに個別に核を区分けしている。3) ゴルジ装置の分布状態と波状縁の位置について関連性は特に認められない。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-13 Three-dimensional reconstruction of Golgi apparatus of osteoclasts by backscattered electron-mode scanning electron microscopy

○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 extension of Golgi apparatus in osteoclasts. For this purpose, femora of young rats were used. After demineralization, 200-300micron-thick, longitudinal slices were cut and processed for NADPase (nicotinamide adenine dinucleotide phosphatase) cytochemistry, by which lead is precipitated in the Golgi apparatus (Smith 1980). Then the slices were embedded in Epon 812 and ultrathin sections were cut for routine transmission electron microscopy and serial, 0.5micron-thick sections for backscattered electron-mode scanning electron microscopy. Active osteoclasts in the primary trabeculae were examined. By a combination of transmission and scanning electron microscopy, it was confirmed that lead precipitation in the Golgi apparatus coincided with intense backscattered electron signals around nuclei. The Golgi apparatus, nuclei, and ruffled border were reconstructed by ImageJ /Fiji on the basis of the backscattered electron images. The reconstructed model and its sections were viewed from various directions, and the followings were suggested. 1) The Golgi apparatus forms an almost continuous structure with a net-like configuration and wraps all nuclei together like a basket. 2) Within the basket-like structure the Golgi apparatus partitions the nuclei one by one. 3) There may be no spatial relationship between the Golgi apparatus and ruffled border.

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

P1-14 破骨細胞機能制御に関連する新規破骨細胞特異的膜表面抗原

○顧 炯炎¹, 久本 由香里¹, 寺町 順平², 日浦 秀暢^{1,3}, 張 旌旗¹, 張 曉旭⁴, 上原 範久¹, 山座 孝義¹, 久木田 明子⁵, 久木田 敏夫¹

¹九大 院歯 分子口腔解剖, ²岡大 院医歯薬 口腔機能解剖, ³九大 院歯 矯正, ⁴九大 院歯 インプラント, ⁵佐賀大 医 微生物

【目的】破骨細胞はRANKLにより誘導されるが, 炎症等の病的環境下では病的に活性化された破骨細胞が形成されることを報告してきた。また, 演者等はラット破骨細胞が特異的に膜表面に発現するKat1抗原を以前に見出しており活性化された破骨細胞が高発現することを見出した。更に破骨細胞にサブポピュレーションが存在すること等を報告してきた。今回, 本抗原に関連する新規膜表面分子C71抗原を見出したので報告する。【方法】ラット破骨細胞(生細胞)をBALB/cマウスに免疫し, 通法によりB細胞ハイブリドーマを作成した。破骨細胞特異的に反応するモノクローナル抗体(MAb)(IgG)産生ハイブリドーマを得た。更にビオチン標識した抗Kat1抗原MAb(MAbKat1)の結合阻害効果を示すMAbを選択した。ラット全骨髄にG10カラム非付着性骨髄細胞を添加することにより多数の破骨細胞が形成できるように最適化した。RIPAバッファーで可溶化した膜蛋白質を用いて免疫沈降を行った。骨吸収アッセイは通法により実施した。【結果と考察】ビオチン標識MAbKat1の破骨細胞への結合を特異的に阻害する新規モノクローナル抗体MAbC71(IgG1)を得た。MAbC71はMAbKat1(IgM)と同様, 破骨細胞に特異的な反応性を示した。骨吸収アッセイ系においてMAbC71は骨吸収を抑制した。上記の最適化された培養条件下で形成したラット破骨細胞の膜表面蛋白質をビオチン化し, 可溶化した後, MAbC71を用いて免疫沈降したところ, 分子量約30kDaの膜表面分子が検出された。質量分析によるC71抗原の同定を進めている。C71抗原は破骨細胞の機能状態に関連した新規膜表面分子であると考えられ, 破骨細胞のサブポピュレーション解析において重要なマーカー分子となるとともに, 本抗原を標的分子とした新規骨破壊制御法の開発にもつながるものと思われる。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-14 Novel osteoclast-specific membrane antigen related to the functional regulation of osteoclasts

○Gu JY¹, Kyumoto Y¹, Teramachi J², Hiura H^{1,3}, Zhang JQ¹, Zhang X⁴, Uehara N¹, Yamaza T¹, Kukita A⁵, Kukita T¹

¹Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Dept Oral Funct Anat, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ³Sect Orthod Dentofac Orthop, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ⁴Sect Implant Rehabil Dent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ⁵Div Microbiol, Fac Med, Saga Univ

Purpose: Osteoclasts are induced generally by RANKL, however, under the pathological circumstances, pathologically activated osteoclasts are formed. We have previously reported that osteoclast-specific Kat1 antigen is highly expressed on cell surface of activated osteoclasts. Here we report on the finding of another novel osteoclast-specific antigen, which is highly related to the Kat1 antigen and involved in the functional regulation of osteoclasts. **Methods:** Unfixed rat osteoclasts were immunized to BALB/c mice and a panel of B-cell hybridomas producing monoclonal antibodies (Mabs) was prepared according to the standard protocol. We selected Mabs having the inhibitory activity on the binding of biotinylated Mab Kat1 to osteoclasts. Immunoprecipitation was performed by use of the magnetic beads. **Results and Discussion:** We have obtained a novel Mab, designated as Mab C71, inhibiting the binding of biotinylated Mab Kat1 to the surface of osteoclasts. Mab C71 (IgG1) showed a quite high specificity to osteoclasts similar to that of Mab Kat1 (IgM). Mab C71 inhibited bone resorption activity of osteoclasts. Immunoprecipitation experiments revealed that C71 antigen had the approximate molecular weight of 30kDa. It is suggested that C71 antigen is a novel membrane molecule involved in the functional regulation of osteoclast.

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

P1-15 抗原反復塗布により舌下粘膜に現れる CD206 陽性マクロファージの免疫寛容特性

○永井 重徳, ヤン ユエ, 東 みゆき

医科歯科大 院医歯 分子免疫

口腔舌下粘膜 (SLM) は, アレルゲンに対する免疫寛容を誘導する舌下免疫療法部位として使用されている. 我々は以前の研究から, 抗原 (スギ花粉や FITC など) の反復塗布により, 円形タイプ CD206⁺ マクロファージ様細胞が SLM に誘導されることを報告した. そこで本研究では, SLM に FITC 反復塗布によって誘導される, この CD206⁺ 細胞の性状および機能を解析した. SLM CD206⁺ 細胞は, CD11b⁺Ly6C⁺F4/80⁺CD64⁺ の組織常在型マクロファージ様細胞であり, 網羅的遺伝子発現解析の結果から, エンドサイトーシスおよびホメオスタシスに関連する遺伝子を優位に発現していた. また, 免疫抑制型マクロファージである M2 マクロファージ関連遺伝子のうち, いくつかの遺伝子を強く発現していたが, 発現していない遺伝子もあり, 舌下粘膜にユニークな抑制性マクロファージであると考えられた. 舌下粘膜への FITC 反復塗布によって CD206⁺ 細胞優位な状態を誘導しておくと, 卵白アルブミン (OVA) 舌下塗布による, 局所リンパ節における OVA 特異的 CD4⁺ T 細胞増殖および炎症性サイトカイン産生が抑制され, 抑制性 T 細胞の割合を高めた. 分離した CD206⁺ 細胞と樹状細胞 (DC) を共培養すると, 成熟化 DC の割合が減少するとともに DC からの IL-12 産生が抑制されたが, この効果は IL-10 の中和により回復した. 以上の結果から, SLM CD206⁺ 細胞が免疫寛容誘導マクロファージの特徴を示し, DC の抗原提示能を抑制することで, CD4⁺ T 細胞応答を阻害することを明らかにした.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P1-15 Tolerogenic properties of CD206⁺ macrophages appeared in the sublingual mucosa after repeated antigen-painting

○Nagai S, Yang Y, Azuma M

Dept Mol Immunol, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ

The sublingual mucosa (SLM) in the oral cavity is utilized as the site for sublingual immunotherapy to induce tolerance against allergens. We previously reported that CD206⁺ round-type macrophage-like cells were induced in the SLM after repeated antigen-painting. In this study, we examined the phenotypic and functional properties of CD206⁺ cells induced by repeated FITC-painting on the SLM. CD206⁺ cells after the repeated FITC-painting possessed macrophage-like CD11b⁺Ly6C⁺F4/80⁺CD64⁺ phenotype. SLM CD206⁺ cells preferentially expressed molecules related to endocytosis and homeostatic processes as assessed by microarray analyses. SLM CD206⁺ cells showed preferential expression of some of M2-related genes. A CD206⁺ cell-rich status inhibited OVA-specific CD4⁺ T-cell responses but reciprocally enhanced the proportion of both IL-10⁺CD4⁺ cells and Foxp3⁺ regulatory T-cells in regional lymph nodes. Co-culture of CD206⁺ cells with dendritic cells (DCs) showed that IL-12 production was suppressed in DCs, concurrent with the decline of mature DC, which was restored by neutralization of IL-10. These results demonstrate SLM CD206⁺ cells show the feature of tolerogenic macrophages and down-regulate the antigen-presenting cell function of mature DCs resulting in the inhibition of CD4⁺ T-cell responses.

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

P1-16 歯周炎における歯周病原細菌 *Fusobacterium nucleatum* および *Porphyromonas gingivalis* の混合投与の影響

○戸田 みゆき¹, 河野 哲朗², 小林 良喜³, 渡辺 新², 玉村 亮², 落合 智子³, 岡田 裕之²

¹日大 院松戸歯, ²日大 松戸歯 組織, ³日大 松戸歯 感染免疫

口腔は、約 700 種類の細菌が存在し、その中でも *Fusobacterium nucleatum* (F.n) と *Porphyromonas gingivalis* (P.g) がある。我々はこれまでに、マウスへ F.n と P.g の生菌を単独で接種させた場合、口腔内の宿主菌叢恒常性の破綻により歯槽骨吸収が起き歯周炎が誘発されるのを報告してきた。これらはいずれも F.n と P.g の単独投与の生菌のみの結果で、これらの菌を死菌化したものや F.n と P.g を混合投与したものの検討はまだ行っていない。本研究は、F.n と P.g の死菌、F.n と P.g の生菌を混合したものが歯槽骨吸収を伴う歯周炎に与える影響を解明するため、比較検討を行った。F.n の生菌 (Fn-L) ないし F.n の死菌 (Fn-D)、P.g の生菌 (Pg-L) ないし P.g の死菌 (Pg-D)、F.n と P.g の混合溶液の生菌 (Fn + Pg-L) ないし F.n と P.g の混合の死菌 (Fn + Pg-D) を 5% カルボキシメチルセルロース (CMC) に菌量 1×10^9 /mouse となるように懸濁させて生菌溶液を作製した。死菌溶液は、それぞれの生菌溶液を 100 °C で 30 分間加熱し作製した。疑似群 (Sham) は 5% CMC のみ 0.1 ml 接種させ、他の群は作製した溶液を計 15 回マウスの口腔内に接種した。最終接種の 1 日後及び 30 日後に上顎骨を採取し、実体顕微鏡にて歯槽骨の吸収量の測定を行った。更に、HE 染色と TRAP 染色により組織学的に検討した。その結果、骨吸収量は最終接種から 30 日後では全ての群の中で Fn + Pg-L が最も大きく、Fn + Pg-D は最終接種から 1 日後、30 日後ともに Sham 群と比較して骨吸収は認められたものの、経時的な差は認められなかった。HE 染色では Fn-L、Fn-D や Pg-L、Pg-D の単独接種より Fn + Pg-L の方が歯周組織内に多くのリンパ球浸潤が認められた。TRAP 染色においても、Fn + Pg-L に最も多くの TRAP 陽性細胞が認められた。これらの結果から、Fn + Pg-L 接種が歯周組織の炎症に最も影響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。

P1-16 Influence of administration of a mixture of periodontopathic bacteria *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis* on periodontitis

○Toda M¹, Kono T², Kobayashi R³, Watanabe A², Tamamura R², Kurita-Ochiai T³, Okada H²

¹Nihon Univ Grad Sch Dent Matsudo; ²Dept Histol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo; ³Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo

There are 700 kinds of bacteria in the mouth, forming a complex ecosystem. It happens due to the collapse of this ecosystem. In recent years, there is increasing evidence that viable bacteria of *Fusobacterium nucleatum* (F.n) and *Porphyromonas gingivalis* (P.g) may cause bone resorption and periodontitis. However, the induction of periodontitis of dead bacteria of F.n and P.g, mixed viable bacteria of F.n and P.g, and mixed dead bacteria of F.n and P.g has remained unclear. In this study, we assessed the morphological changes in inflamed bone. We made F.n and P.g of viable and dead bacteria, respectively, and those mixed, which suspended in 0.1ml of 2% carboxymethylcellulose. Mice were inoculated with those bacteria 15 times. Mononuclear cells infiltration and TRAP-positive cell were observed in the periodontal tissue infected with viable F.n, and P.g mixed, and significant bone resorption was detected when compare with sham infected mice. These results suggest that F.n+P.g-L inoculation had the most influence on periodontal inflammation.

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

P1-17 抗菌ペプチド LL-37 は歯周病関連細菌由来 DNA と複合体を形成し破骨細胞誘導活性を発揮する

○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, 慢性歯周炎患者罹患部位の歯肉溝浸出液で増加していることが報告されている. 以前我々は, LL-37 がヒト歯肉線維芽細胞のケモカイン産生を P2X7 受容体を介して誘導することを明らかにした. 本研究で LL-37 の炎症誘導性についてさらに調べたところ, LL-37 が *Porphyromonas gingivalis* (Pg) 由来 DNA と結合し, 破骨細胞誘導活性を発揮することを見出したので報告する. Pg 由来 DNA に LL-37 を作用させた後, DNA の濃度を DNA 結合蛍光色素による蛍光強度を測定することで調べた. LL-37 を作用させた Pg DNA は作用させていない Pg DNA と比較して蛍光強度が低下した. またアガロースを用いた電気泳動により Pg DNA ではおよそ 10000 bp あたりにバンドを確認したが, LL-37 を作用させた Pg DNA ではアプライしたウェルに留まったバンドを確認した. これらの結果から LL-37 は Pg DNA と結合し, LL-37-Pg DNA 複合体を形成すると考えられた. Pg DNA に DNase を作用させると蛍光強度が低下したが, LL-37-Pg DNA 複合体では低下しなかった. LL-37-Pg DNA 複合体の細胞刺激性を調べたところ, マウスマクロファージより分化させた破骨前駆細胞において酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼなどの破骨細胞マーカーの発現を誘導するとともに破骨細胞形成を促進した. これらの結果より, LL-37 は歯周病関連細菌を殺菌するがその結果放出された細菌由来 DNA が LL-37 と結合し DNase による分解から逃れ, 破骨細胞誘導活性を発揮するリガントとなることが考えられた.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P1-17 The antimicrobial peptide LL-37 forms a complex with DNA from periodontopathic bacteria and exerts osteoclast-inducing activity

○Inomata M, Into T

Dept Oral Microbiol, Fac Dent, Asahi Univ

LL-37 is the member of the cathelicidin family of antimicrobial peptides. Patients with periodontitis exhibit increased levels of LL-37 in gingival crevicular fluids. We have previously demonstrated that LL-37 upregulates chemokine response via the P2X7 receptor in human gingival fibroblasts. In this study, we further examined proinflammatory effect of LL-37 and found that LL-37 binds *Porphyromonas gingivalis* (Pg) DNA and exerts osteoclast-inducing activity. Pg DNA treated with LL-37 was examined using DNA binding fluorescent dye, and its fluorescence intensity was decreased compared to untreated DNA. In addition, untreated Pg DNA of about 10,000 bp was observed by agarose gel electrophoresis, but Pg DNA treated with LL-37 was retained in the loading well, suggesting that LL-37 binds to Pg DNA to form a complex. The fluorescence intensity of untreated Pg DNA decreased after DNase treatment, but this did not occur with the LL-37-Pg DNA complex. The LL-37-Pg DNA complex induced the expression of osteoclast markers, such as tartrate-resistant acid phosphatase, and osteoclastogenesis in osteoclast precursor cells. These results suggest that LL-37 kills periodontopathic bacteria, but the DNA released from the dead bacteria binds LL-37, escaping degradation by DNase, and the LL-37-bacterial DNA complex may become a ligand that exerts osteoclast-inducing activity.

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

P1-18 メチル化阻害剤による口腔扁平上皮癌細胞の増殖抑制作用

○牛尾 亮介^{1,2}, 廣井 美紀¹, 嶋田 淳², 大森 喜弘¹

¹明海大 歯 微生物, ²明海大 歯 口腔顎顔面外科 1

【目的】免疫チェックポイント阻害剤である抗PD-1/PD-L1抗体を用いた悪性腫瘍に対する免疫療法は、頭頸部癌の標準治療法として認められ、有効性が確認されている。しかしながらその奏功率は20～30%程度であり有効性が認められない症例もある。この免疫チェックポイント阻害剤に対する耐性機構の一つにがん細胞が有するインターフェロン（IFN）耐性が考えられる。我々の先行研究において、この耐性機構はIFNの情報伝達経路であるJAK/STAT1の異常ではなく、その下流のIFNによる細胞増殖を制御している遺伝子群の不活化によることを報告した。このIFNによる細胞増殖抑制に対する耐性機構として細胞増殖に関わる遺伝子のメチル化などによるエピジェネティックな不活化が考えられた。そこで今回、その可能性を検証するためIFN耐性ヒト口腔扁平上皮癌細胞のメチル化阻害剤による細胞増殖に及ぼす効果を検討した。

【方法】ヒト口腔扁平上皮癌細胞株HSC-2（IFN感受性細胞）およびCa9-22（IFN耐性細胞）を用いて、各種メチル化阻害剤とIFN γ との併用により細胞増殖に影響を及ぼすメチル化阻害剤の濃度検定をCell Counting Kit-8を用いて検討した。

【結果】HSC-2では、IFN γ 添加で細胞増殖抑制が認められ、メチル化阻害剤においても抑制作用が認められた。Ca9-22細胞ではIFN γ に耐性を示したが、メチル化阻害剤単独処理で増殖抑制が認められた。しかし、IFN γ とメチル化阻害剤の併用処理においては抑制効果の増強は認められなかった。

【結論】メチル化阻害剤は、IFN感受性細胞、IFN耐性細胞に対して増殖抑制作用を示した。しかし、IFN γ とメチル化阻害剤との併用には増殖抑制に対する増強効果は認められなかった。今後、上記濃度検定により10～20%の増殖抑制を示した低濃度の各種阻害剤の併用処理を行い、細胞増殖に対する効果を検討する予定である。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-18 Inhibition of cell growth of oral squamous cell carcinoma cells by methylation inhibitors

○Ushio R^{1,2}, Hiroi M¹, Shimada J², Ohmori Y¹

¹Div Microbiol Immunol, Meikai Univ Sch Dent; ²Div Oral Maxillofac Surg 1, Meikai Univ Sch Dent

Background Immunotherapy of malignant tumors with anti-PD-1/PD-L1 antibodies, an immune checkpoint inhibitor, has been approved as a standard treatment for head and neck cancer, and its efficacy has been confirmed. However, the response rate is about 20-30%, and in some cases the efficacy is not recognized. One of the mechanisms of resistance to the immunotherapy is interferon (IFN) resistance in cancer cells. Epigenetic inactivation, such as methylation of genes involved in cell growth, has been considered as a mechanism of the resistance to IFN-induced inhibition of cell growth. In this study, we investigated the effects of DNA methylation inhibitors and histone methylation inhibitors on cell proliferation in IFN-resistant human oral squamous cell carcinoma cells.

Methods Human oral squamous cell carcinoma cell line HSC-2 (IFN-sensitive) and Ca9-22 (IFN-resistant) cells were treated with varying concentrations of methylation inhibitors in the presence or absence of IFN-gamma and cell proliferations were assessed by using Cell Counting Kit-8.

Results Methylation inhibitors showed growth inhibitory effects on IFN-sensitive and IFN-resistant cells. However, the combination of IFN and methylation inhibitors did not have any potentiating effect on growth inhibition.

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

P1-19 Th17 細胞を介した免疫応答による口腔カンジダ症の病態制御機構の解明

○田崎 園子^{1,2}, 有田 (森岡) 健一^{2,3}, 永尾 潤一^{2,3}, 成田 由香^{2,3}, 根来 (安松) 香奈江², 小島 寛¹, 田中 芳彦^{2,3}

¹福歯大 障害歯, ²福歯大 感染生物, ³福歯大 口腔医学研究セ

口腔カンジダ症は口腔領域におけるメジャーな真菌感染症です。口腔カンジダ症の病原菌 *Candida albicans* (*C. albicans*) は健常なヒトの皮膚・粘膜・腸管などに存在する一般的な常在真菌ですが、免疫能の低下した高齢者や後天性免疫不全症候群の患者などに対しては皮膚や粘膜に難治性の日和見感染症を引き起こします。*C. albicans* に対する生体防御には IL-17A を産生するヘルパー T 細胞サブセットである Th17 細胞が関与していることがよく知られていますが、その誘導や感染制御機構には未だ不明な点が多くある現状にあります。今回、我々は二形性真菌である野生株 *C. albicans*-SC5314 株の酵母形細胞と菌糸形細胞をガラスビーズ破碎、超遠心、化学処理により、細胞壁、細胞膜、細胞質などの成分に分画しました。これらの分画のタンパク質を抗原として利用し、野生型マウス (C57BL/6) 由来の免疫細胞 (CD4⁺T 細胞・骨髄由来樹状細胞) と共培養し、フローサイトメーターを利用してその Th17 細胞分化誘導能について評価しました。その結果、菌糸形の細胞膜画分に含まれるタンパク質が高い Th17 細胞の分化誘導能を示し、この分化した T 細胞を養子移入した口腔カンジダ症モデルマウスでは口腔カンジダ症の発症が抑制されることを見出しました。我々はこの菌糸形細胞膜成分を逆相クロマトグラフィーや 2 次元ゲル電気泳動を利用しさらに分画し、Th17 細胞の分化誘導を指標に *C. albicans* 抗原候補タンパク質の絞り込みを行いました。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-19 Investigation of pathophysiological mechanisms with Th17 cells in oral candidiasis

○Tasaki S^{1,2}, Arita-Morioka K^{2,3}, Nagao J^{2,3}, Narita Y^{2,3}, Negoro-Yasumatsu K², Kojima H¹, Tanaka Y^{2,3}

¹Div Dent Disabled, Fukuoka Dent Coll; ²Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll; ³Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll

Oral candidiasis is an opportunistic mucosal infection caused by the commensal fungus *Candida albicans* (*C. albicans*). *C. albicans* has increased in immunocompromised patients with AIDS or in the transplant setting. Th17 cells are a subset of T cells involved in mucosal immunity. In this study, we investigated the immune regulatory mechanism of Th17 in defense against *C. albicans*. We fractionated *C. albicans* into various fractions and searched for antigens that specifically induce Th17 cell differentiation. We found that *C. albicans* protein-stimulated T cells that were transferred intravenously by adoptive transfer preferentially migrated to the oral lymph nodes and prevented oral candidiasis. We further separated the membrane proteins of mycelial cells by high performance liquid chromatography and two-dimensional electrophoresis, and evaluated their ability to induce Th17 differentiation.

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

P1-20 シェーグレン症候群モデルマウスにおける肺病変の解析

○佐藤 真美, 常松 貴明, 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 (SS) は腺組織を標的とする自己免疫疾患であり、乾燥症状のために患者の QOL は著しく低下するとされる。SS は腺組織に主な病変を示す一方で、さまざまな全身臓器が標的となる全身性自己免疫疾患でもある。なかでも、SS 患者の約 20% に間質性肺炎などの肺病変が生じるとされているが、その発症機序に関しては十分に理解されていない。本研究では、SS モデルマウスとして生後 3 日目に胸腺摘出を行った NFS/sld マウスを用い、肺病変の発症機序の解明を目指した。SS モデルマウスでは、肺間質の脈管および気管支周囲において炎症性細胞浸潤を高頻度に確認した。T 細胞が主に浸潤する唾液腺や涙腺とは異なり、肺間質に浸潤する免疫担当細胞は B 細胞が優位であることを明らかにした。さらに、B 細胞に特異的な抗 CD20 抗体投与により、肺における炎症病変の抑制が認められた。一方で、モデルマウス肺中の BALF 細胞に注目すると未熟な単球細胞の割合が増加していた。また、唾液腺病変と肺病変の違いを比較検討するために、それぞれの組織に発現する遺伝子の網羅的解析ならびに定量 RT-PCR を実施したところ、TNF ファミリー遺伝子に属する TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK)、A proliferation-inducing ligand (APRIL)、その融合タンパク質である TWE-PRIL に加え、B 細胞の生存・分化・抗体産生などに関わる B cell activating factor belonging to the tumor necrosis factor family (BAFF) の発現が肺組織に高く、肺病変での B 細胞の活性化との関連が示唆された。以上の結果から、肺免疫システムと協調した B 細胞の活性化が SS の肺病変の形成に関与している可能性が考えられる。新垣理恵子

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-20 Analysis of lung lesions in Sjögren's syndrome model mice

○Sato M, Tsunematsu T, Ishimaru N

Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

Although the glandular lesions in salivary and lacrimal glands are central in Sjögren's syndrome (SS), multiple organs other than exocrine glands are also targeted. Pulmonary lesions with interstitial pneumonia are observed in 20% of patients with SS. In this study, cellular mechanisms of the onset of pulmonary lesions in SS were analyzed using a murine SS model treated with neonatal thymectomy in NFS/sld mice. Inflammatory lesions of the lung were detected frequently in the model mice. Main population in the pulmonary lesions was B cells while T cells are mainly infiltrated into the salivary and lacrimal glands in the model. In addition, suppressive effect of the inflammatory lesions was observed by administration of anti-CD20 antibody. On the other hand, a subset of immature monocytes in BALF cells including alveolar macrophages in SS model mice was significantly increased compared with that in control mice. Moreover, comprehensive genes expression analysis and q-RT-PCR in the target tissues revealed that several genes of TNF family such as TWE-PRIL, APRIL, TWEAK, and BAFF show high expressions to activate B cells. These results suggest that B cell activation plays a key role in the pathogenesis of pulmonary lesions of SS with corporation of lung immune system.

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

P1-21 NOD マウスにおける唾液腺のリンパ濾胞形成に及ぼす MyD88 の役割について

○森 大気, 片岡 嗣雄, 引頭 毅

朝日大 歯 口腔微生物

シェーグレン症候群 (SS) は唾液腺や涙腺の機能障害を伴う自己免疫疾患である。唾液腺の機能障害はリンパ球浸潤を伴う慢性炎症に起因しており、自己抗体や自己反応性リンパ球が病態形成に大きく関与するが、本質に迫る原因解明には未だ至っていない。唾液腺のリンパ球浸潤は無秩序に発生するものではなく、T細胞・B細胞区画、高内皮細静脈 (HEV)、リンパ管、胚中心様構造の形成など、二次リンパ組織内に形成されるリンパ濾胞と類似した秩序ある構造をとる。そのため、異所性に発生するリンパ組織「三次リンパ組織」であると考えられている。我々は以前、二次性 SS モデルマウスとして知られる NOD マウスにおいて Toll 様受容体 /IL-1 受容体のアダプター分子 MyD88 遺伝子を欠失させると、リンパ球浸潤の発生頻度が減少し、HEV 形成が抑制されることを見出した。本研究では、NOD マウスの唾液腺内に形成されるリンパ濾胞様構造の性状を調べ、MyD88 欠損がリンパ濾胞形成に及ぼす影響を解析した。10 週齢の NOD マウスおよび MyD88 欠損 NOD マウスから顎下腺を採取し、抽出した全 RNA をマイクロアレイ解析に供したところ、MyD88 欠損マウスにおいて三次リンパ組織の形成やリンパ新生に関わる CXCL13 や CXCR5 などのケモカインおよびケモカイン受容体の遺伝子発現が著明に減少していた。また、顎下腺組織の免疫染色による解析を行ったところ、濾胞ヘルパー T 細胞、胚中心 B 細胞ならびに濾胞樹状細胞の出現頻度が MyD88 欠損マウスにおいて減少していることがわかった。これらの結果は、NOD マウスにおける Toll 様受容体 /IL-1 受容体シグナル伝達の遮断が、唾液腺組織内における濾胞樹状細胞数や濾胞ヘルパー T 細胞数の減少をもたらし、MyD88 依存的シグナルが SS におけるリンパ濾胞や胚中心の形成に直接的に関与している可能性を示唆している。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-21 A role of MyD88 signaling in lymphoid follicle formation in the salivary gland of NOD mice

○Mori T, Kataoka H, Into T

Dept Oral Microbiol, Fac Dent, Asahi Univ

Sjögren's syndrome (SS) is an autoimmune disease characterized by dysfunction of salivary glands (SGs) and lacrimal glands, which is caused by chronic inflammation associated with autoantibody and autoreactive lymphocyte infiltration. The pathogenic mechanism of SS has not been fully elucidated. Infiltrated lymphocytes form regularized structures similar to lymphoid follicles of secondary lymphoid organs, such as T/B cell compartments, high endothelial venules (HEVs), lymphatic vessels, and germinal centers, therefore being believed as an ectopic lymphoid tissue called tertiary lymphoid organs (TLO). We previously found that deletion of the Toll-like receptor/IL-1 receptor (TLR/IL-1R) adaptor molecule gene *Myd88* in SS model mice NOD reduced the frequency of lymphocyte infiltration and HEV formation in SGs. In this study, we analyzed the effect of MyD88 deficiency on lymphoid follicle formation in SGs of NOD mice. Microarray analysis showed decreased expression of genes related to TLO, such as *Cxcl13* and *Cxcr5*, in *Myd88*-deficient SGs. Immunohistochemical analysis revealed that Tfh cells, germinal center B cells, and follicular dendritic cells were decreased by MyD88 deficiency. These results indicate that deficiency of TLR/IL-1R signaling decrease follicular dendritic cells and Tfh cells in SGs, suggesting MyD88-dependent signaling is directly involved in formation of lymphoid follicles and germinal centers in SS.

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

P1-22 歯周病原細菌の抗原性に着目した歯周病の病態形成機構の解明

○永尾 潤一^{1,2}, 成田 由香^{1,2}, 有田 (森岡) 健一^{1,2}, 根来 (安松) 香奈江¹, 田崎 園子¹, 田中 芳彦^{1,2}

¹福歯大 感染生物, ²福歯大 口腔医学研究セ

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炎症性の疾患であり、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。これまでに、歯周病患者の歯周組織にはサイトカイン IL-17A を産生する T 細胞のサブセットである Th17 細胞が増加しており、歯周病の病態形成には、Th17 細胞が重要な役割を果たすことが報告されている。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。歯周病の病態形成における Th17 細胞の制御機構を解明し、得られた成果を基に Th17 細胞の分化を制御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。我々はこれまでに、歯周病との関連性が高い Red complex に分類される歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* W83 株を用いてマウス歯周病モデルを構築してきた。本研究では、*P. gingivalis* 感染によるマウス歯周病モデルを活用し、Th17 細胞の分化誘導に重要な歯周病原細菌の T 細胞抗原および Th17 細胞の T 細胞受容体に着目し、歯周病の病態形成における Th17 細胞の制御機構を解明することを目的とする。本発表では、Th17 細胞に誘導する抗原タンパク質の絞り込み、および抗原特異的な Th17 細胞の生体内での動態に関する解析について報告する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-22 Analysis of pathological mechanism of periodontal disease via Th17 cell immune response

○Nagao J^{1,2}, Narita Y^{1,2}, Arita-Morioka K^{1,2}, Negoro-Yasumatsu K¹, Tasaki S¹, Tanaka Y^{1,2}

¹Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll; ²Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll

Periodontal disease is an oral microbe-triggered inflammatory disease leading to destruction of tooth-supporting structures. 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. In this study, we developed a mice model of periodontal disease by infection of periodontal bacteria *Porphyromonas gingivalis*. We focused on T-cell antigen of *P. gingivalis* to induce the Th17 cell differentiation and T-cell receptor of pathogenic Th17 cells using the mice model of periodontal disease.

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

P1-23 マイコプラズマ由来リポタンパク質・リポペプチドによる NLRP3 インフラマソーム活性化における TLR2 の役割

○佐伯 歩¹, 引頭 毅², 長谷部 晃¹, 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

IL-1 β は細胞内センサーであるインフラマソームの活性化により誘導される。我々はこれまでマイコプラズマ由来リポタンパク質/リポペプチドがマクロファージに対し NLRP3 インフラマソームを活性化して IL-1 β の産生を誘導することを明らかにした。また、その活性発現には Toll like receptor (TLR) 2が重要であることを報告した。本研究は、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惹起される TLR2 シグナルがどのようなメカニズムで NLRP3 インフラマソーム活性化を誘導するのかを明らかにすることを目的とした。大腸菌由来リポ多糖でプライミングした C57BL/6 マウス骨髄由来マクロファージ (TLR2^{+/+}BMM) を *Mycoplasma salivarium* 由来リポペプチド FSL-1 で刺激すると IL-1 β の放出を誘導したが、本活性は TLR2 ノックアウトマウス骨髄由来マクロファージ (TLR2^{-/-}BMM) で阻害された。また、本活性は、高カリウム (K⁺) 培地を用いて、K⁺の細胞外流出を抑制することで阻害された。さらに、マイクロアレイによる発現遺伝子解析で、TLR2^{-/-}BMM において、電位依存性 K⁺ チャンネル (Kcnf1) の発現が低下していた。また、FSL-1 のトランスフェクションにより、TLR2^{+/+}BMM では caspase-1 の活性化が誘導されたが、TLR2^{-/-}BMM では阻害された。以上のことより、マイコプラズマ由来リポタンパク質/リポペプチド刺激による TLR2 シグナルは、電位依存性 K⁺ チャンネルの発現を誘導し、K⁺の細胞外流出を介して、NLRP3 インフラマソームの活性化を誘導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。

P1-23 The roles of TLR2 in the NLRP3 inflammasome activation induced by mycoplasmal lipoproteins/lipopeptides

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

¹Dept Oral Mol Microbiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ²Dept Oral Microbiol, Fac Dent, Asahi Univ

IL-1 β is produced after the processing of pro-IL-1 β by caspase-1 which is activated by the inflammasome. Recently, we showed that mycoplasmal lipoproteins (mLP) and lipopeptide (FSL-1), which are typical TLR2 ligands, activated the NLRP3 inflammasome in murine macrophages (BMM). This study was carried out to examine how TLR2 signals triggered by mLP and FSL-1 participate in the NLRP3 inflammasome activation. They induced production and release of IL-1 β by TLR2^{+/+}BMM after LPS priming, but the activity toward TLR2^{-/-}BMM were significantly attenuated. The activity was attenuated by high extracellular K⁺, which block K⁺ efflux. The expression of potassium voltage-gated channel, subfamily F, member 1 (Kcnf1) was downregulated in TLR2^{-/-}BMM in response to FSL-1, which was assessed by a microarray system. The processing of pro-caspase-1 was detected in the artificial delivery of FSL-1 into the cytosol of LPS-primed TLR2^{+/+}BMM, but not TLR2^{-/-}BMM. These results suggest that TLR2-mediated signals by FSL-1 trigger K⁺ efflux extracellularly through potassium voltage-gated channel, which induce processing of pro-caspase-1 by the NLRP3 inflammasome activation.

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

P1-24 腸管を起点とした口腔免疫機能を活性化させる液性因子の探索

○小林 良喜, 瀧澤 智美, 落合 智子

日大 松戸歯 感染免疫

近年、腸管を軸とした多臓器連関による生体恒常性の維持・充進が報告されている。Dysbiosisによりアレルギー、肥満、糖尿病、高血圧性疾患や認知症など全身疾患の発症や増悪化が報告されて、中でも歯周病は慢性化することでさらなる症状を悪化させるリスクファクターとして注目され、予防法や改善方法が求められている。我々は、乳酸菌の胃内投与による腸内環境の改善と腸管を起点とした口腔免疫機構の活性化による歯周炎予防効果を報告しているが、生体内における機序の解明は不明であった。そこで、乳酸菌による腸内環境の改善が口腔領域に波及する機序を解明することを目的として行った。BALB/c マウスに *Lactobacillus gasseri* O3-2 (O3-2) を7日間の胃内投与を行い、対照群には25%トレハロース溶液を同様に投与した。血液中のmicroRNA (miRNA) の発現変動を検討するために最終投与から1日後に採血し、miRNA抽出キットにより抽出し、マイクロアレイ (GeneChip mRNA 4.0 Array, Affymetrix) にてmiRNAの網羅的解析を行った。O3-2の胃内投与1週間後に、血清から抽出したmiRNAを解析ソフト (Filgen社) を用いて、O3-2投与により発現が変動したmiRNA群の抽出を行ったところ、60のmiRNAに変動が認められた。このうち、2倍以上の発現上昇したものは28種、発現低下したものは32種であった。乳酸菌による腸内環境の改善効果により全身の免疫応答など生体恒常性の維持・充進に関わることが注目されているが、血液中に安定して存在するmiRNAにより全身循環することで遠隔臓器に移動し、遺伝子発現を制御することで口腔組織での免疫波及効果に関与する因子として示唆される。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-24 Identification of microRNA regulating the enhancement of the oral immune system

○Kobayashi R, Hashizume-Takizawa T, Kurita-Ochiai T

Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo

Recently, maintenance and enhancement of the homeostasis by the intestinal-multi-organ linkage has been reported. We have been reported that the intestinal environment's improvement by the administration of Lactic acid bacteria (LAB) and the activation of the oral immune system via the intestinal tract. This study aimed to elucidate the mechanism by which the improvement of the oral immune responses via the intestine. BALB/c mice were orally administered with *Lactobacillus gasseri* O3-2 (O3-2) for seven days. The control group was administered with a 25% trehalose only. One day after the last administration, blood was collected and used the miRNA extraction kits and microarray. We identified 60 unique miRNAs with expression patterns that were up- or down-regulated at 2-fold or more by the O3-2 administration. Among them, 28 miRNAs were up-regulated, and 32 were down-regulated. These data suggest that miRNA circulating in the bloodstream regulates the gene expression by systemic circulation and is suggested to be a factor involved in the immune responses in oral.

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

P1-25 *Porphyromonas gingivalis* LPS が誘発する糖尿病性腎症における腎臓の生理活性分子の発現に関する免疫組織化学的研究

○Kajiwara Koichiro¹, 藤田 隆寛¹, 沢 禎彦²

¹福歯大 矯正, ²岡大 院医歯薬 口腔機能解剖

糖尿病性腎症は、メサンギウム基質の増加による糸球体硬化を原因とし、糸球体毛細血管の機能不全に基づく腎不全を伴うことによって引き起こされる糖尿病の深刻な合併症である。我々はこれまでに、糖尿病モデルマウスの腎糸球体血管内皮細胞において、通常は発現が見られない toll-like receptor (TLR) 2 および TLR4 を発現し、*Porphyromonas (P.) gingivalis* リポ多糖 (LPS) が尿タンパク質および腎組織では TLR 下流のサイトカインとこれが誘導する I 型コラーゲンの増生が見られ、IL-6, TNF- α , および TGF- β を伴う糖尿病性腎症を誘発することを報告した。この研究では、免疫組織化学的に白血球接着分子の発現と腎生理活性分子 FGF23 と SARS-CoV-2 受容体 ACE2 の *P. gingivalis* LPS 誘発糖尿病性腎症モデルマウスの糸球体を調査することを目的としています。 *P. gingivalis* LPS を定期的に反復投与を受けたすべての糖尿病マウスは、LPS が投与されていない健常群と比べて、すべての糖尿病マウスの生存期間内および LPS 投与されたすべての非糖尿病マウスの生存期間内ですべて humane endpoint に達した。 VCAM-1, E-セレクトリン, FGF23, および ACE2 は、*P. gingivalis* マウスの LPS 誘発糖尿病性腎症の糸球体で過剰に発現しましたが、これらの分子は、LPS 投与された正常のマウス腎臓および非 LPS 投与の糖尿病マウスでは見られませんでした。よって、*P. gingivalis* は糖尿病患者の重要な要素の 1 つであると考えられています。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-25 Immunohistochemical study for the expression of renal physiologically active molecules in *Porphyromonas gingivalis* LPS-induced diabetic nephropathy

○Kajiwara K¹, Fujita T¹, Sawa Y²

¹Div Orthodont, Fukuoka Dent Coll; ²Dept Oral Funct Anat, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ

Diabetic nephropathy is a serious complication of diabetes mellitus, which is caused by glomerulosclerosis with renal failure based on the dysfunction of glomerular capillaries. We recently reported that the glomerular endothelium in the glomeruli of diabetic mice expresses toll-like receptor (TLR)2 and TLR4, and that *Porphyromonas (P.) gingivalis* lipopolysaccharide (LPS) induces diabetic nephropathy with urinary protein and the accumulation of type 1 collagen, IL-6, TNF- α , and TGF- β in glomeruli. This study aims to immunohistochemically investigate the expression of leukocyte adhesion molecules, and renal physiologically active molecule FGF23 and SARS-CoV-2 receptor ACE2 in the glomeruli of *P. gingivalis* LPS induced-diabetic nephropathy model mouse. All of the diabetic mice subjected to repeated *P. gingivalis* LPS administrations were euthanized within the survival period of all diabetic mice not administered LPS and within the survival period of all of the LPS-administered non-diabetic mice. The VCAM-1, E-selectin, FGF23, and ACE2 were overexpressed in the glomeruli of *P. gingivalis* LPS induced-diabetic nephropathy in mice although these molecules were not found in LPS-administered normal kidney and non LPS-administered diabetic mice. It is thought that the *P. gingivalis* is one of the critical factors in the diabetic patients.

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

P1-26 脂肪細胞の血管新生因子発現に及ぼす炎症性サイトカインの影響

○中井 久美子¹, 田中 秀樹^{1,2}, 川戸 貴行^{1,2}

¹日大 歯 衛生, ²日大 歯 総歯研 機能形態

【目的】脂肪組織が肥大化する過程では血管形成が促進する一方で、血管形成の抑制はインスリン抵抗性や動脈硬化のリスクを高めるアディポカイン産生を誘導することが知られている。一方、歯周病は軽微な慢性炎症として糖尿病など様々な生活習慣病に関連すると考えられている。本研究では、血管新生因子を発現して脂肪組織における血管網の形成を調節する脂肪細胞に着目し、歯周病との関連性が知られる炎症性サイトカイン interleukin (IL) -6 と tumor necrosis factor (TNF) - α が脂肪細胞の血管新生因子の発現に及ぼす影響を検討した。

【方法】マウス胎児由来 3T3-L1 細胞を 6-well plate に播種し、insulin, dexamethasone および isobutylmethylxanthine を加えた培地で脂肪細胞へ分化誘導した。脂肪細胞への分化の程度は Oil-Red-O 染色で確認した。分化初期の小さな脂肪滴を含む脂肪細胞と、分化後期の大滴化した脂肪を有する脂肪細胞を、0.01 ng/mL の IL-6 または TNF- α で 24 時間、刺激した。血管新生因子の遺伝子発現は real-time PCR 法で、タンパク発現は ELISA 法で調べた。

【結果】分化初期の脂肪細胞では、血管形成を促進する angiopoietin (Ang) -2, vascular endothelial growth factor (VEGF) -A2, fibroblast growth factor (FGF) -2 および hepatocyte growth factor (HGF) の発現が IL-6 と TNF- α の刺激で増加し、血管形成を抑制する Ang-1 の発現は減少した。一方、IL-6 と TNF- α は、分化後期の脂肪細胞における Ang-2, VEGF-A2, FGF-2 および HGF の発現を抑制し、Ang-1 の発現を促進した。

【考察】本研究結果から、IL-6 と TNF- α は、未成熟の脂肪細胞の複数の血管新生因子の産生を増加して血管形成を促進する一方で、成熟脂肪細胞ではこれを抑制す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。

P1-26 Effects of inflammatory cytokines on the expression of angiogenic factors in adipocytes

○Nakai K¹, Tanaka H^{1,2}, Kawato T^{1,2}

¹Dept Oral Health Sci, Nihon Univ Sch Dent; ²Div Funct Morphol, Dent Res Center Nihon Univ Sch Dent

Adipocytes produce angiogenic factors and involve in angiogenesis in adipose tissue. The remodeling of the vascular network is closely associated with the expansion and dysfunction of adipose tissue. Periodontitis is a mild chronic inflammatory disease with systemic effects. In the present study, we focused on a role of adipocytes in angiogenesis and inflammatory cytokines, and investigated the effects of interleukin (IL)-6 and tumor necrosis factor (TNF)- α that are involved in periodontal disease on the expression of angiogenic factors in adipocytes. 3T3-L1 cells were differentiated into adipocytes, and then stimulated with 0.01 ng/mL IL-6 or TNF- α in either the early stage of cell differentiation (when lipid droplets were small) or the late stage of differentiation (when lipid droplets were large). The mRNA and protein expression levels of angiogenic factors were quantitated using real-time PCR and ELISA, respectively. After the stimulation of either inflammatory cytokine, the levels of angiogenic factors (including vascular endothelial growth factor, hepatocyte growth factor, fibroblast growth factor, angiopoietin-2) increased in cells at the early stage of differentiation, but decreased during late-stage differentiation. Inflammatory cytokines may thus affect adipose tissue angiogenesis by modulating the expression levels of adipocyte angiogenic factors in adipocytes.

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

P1-27 *P. gingivalis* 由来 lipopolysaccharide によるヒト間葉系幹細胞における骨芽細胞分化抑制効果の発現機構の解明

○青木 貴晃^{1,2}, 横田 聖司¹, 帖佐 直幸¹, 加茂 政晴¹, 野田 守², 石崎 明¹

¹岩医大 歯 生化, ²岩医大 歯 う蝕

【目的】近年, Tang や Kato らは *P. gingivalis* 由来 LPS が間葉系幹細胞 mesenchymal stem cell (MSC) の増殖ならびに骨芽細胞分化能力を抑制することを報告しているが, その骨芽細胞分化抑制機構の詳細については分子レベルで明らかとされていない (Tang et al, Cell Prolif, 48: 239-248, 2015; Kato et al, Arch Oral Biol, 59: 167-175, 2014). 今回我々は, TGF- β 1 刺激により extracellular signal-regulated kinase (ERK) 1/2 依存的に骨芽細胞分化を示すヒト骨髄由来 MSC 株 UE7T-13 を用いて, *P. gingivalis* 由来 lipopolysaccharide (LPS) がどのような分子メカニズムによりこの細胞の骨芽細胞分化能力を抑制するのかについて明らかとし, 根尖性歯周炎の際に認められる根尖部歯槽骨吸収に働くターゲット分子を明らかとすべく調査を進めた.

【方法】*P. gingivalis* 由来の LPS が, 骨芽細胞分化誘導後のヒト骨髄由来間葉系幹細胞 UE7T-13 における骨芽細胞マーカーの発現に与える影響について RT-qPCR 法を用いて mRNA レベルで調査した.

【結果と考察】*P. gingivalis* 由来 LPS は, UE7T-13 細胞において TGF- β 1 刺激により誘導された骨芽細胞初期分化マーカーの alkaline phosphatase (ALP) の発現を濃度依存的に抑制した. 我々は以前に, TGF- β 1 が UE7T-13 細胞の骨芽細胞分化を ERK1/2 依存的に誘導することを報告している (Yokota et al, Int J Mol Med, 33: 534-542, 2014). 現在我々は, UE7T-13 細胞において TGF- β 1 により活性化される ERK1/2 が, *P. gingivalis* 由来 LPS 刺激によりどのように影響されるのか調査している. 加えて, *P. gingivalis* 由来 LPS 刺激がどのような細胞内シグナル伝達経路を介して骨芽細胞分化抑制効果を示すのかについても調査中である. 今後, *P. gingivalis* 由来 LPS が MSC の骨芽細胞分化能力を低下させるためのキーとなる分子を同定して, 根尖性歯周炎の際に吸収された歯槽骨の再生医療樹立のためのターゲット分子を同定したい.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P1-27 Elucidation of molecular mechanisms underlying lipopolysaccharide-induced suppression of osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells

○Aoki T^{1,2}, Yokota S¹, Chosa N¹, Kamo M¹, Noda M², Ishisaki A¹

¹Div Cell Biosignal Sci, Dept Biochem, Sch Dent, Iwate Med Univ; ²Div Oper Dent Endodont, Sch Dent, Iwate Med Univ

Purpose: *P. gingivalis* lipopolysaccharide (LPS) suppressed osteoblastic differentiation of mesenchymal stem cells (MSCs) (Tang et al, Cell Prolif, 48: 239-248, 2015; Kato et al, Arch Oral Biol, 59: 167-175, 2014). However, it remained to be clarified whether what kinds of molecular mechanisms underlay the *P. gingivalis* LPS-promoted suppression of osteoblastic differentiation of MSCs. This study aimed to identify key molecules to relay intracellular signals for the LPS-induced inhibition of osteoblastic differentiation of MSCs.

Materials & Methods: Expression level of alkaline phosphatase (ALP) was examined in the human bone marrow-derived MSCs, UE7T-13 cells, which had been treated and differentiated into osteoblasts by transforming growth factor (TGF)- β 1 treatment, by using RT-qPCR analysis.

Results & Discussion: *P. gingivalis* LPS dose-dependently suppressed the TGF- β 1-induced osteoblastic differentiation of MSCs. We previously reported that TGF- β 1 promoted the osteoblastic differentiation of MSCs in an extracellular signal-regulated kinase (ERK)1/2-dependent manner. We are investigating whether the LPS disrupted the TGF- β 1-induced ERK1/2 activation. In addition, we are investigating what kinds of intracellular signals needed for the inhibition of osteoblastic differentiation of MSCs were activated by the LPS stimulation.

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

P1-28 *P. gingivalis* ジンジパインによる COX-2 発現と細胞外カルシウム流入の分子機序

○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 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は COX-2 の発現と PGE2 の産生に関与し、それには細胞内カルシウム (Ca^{2+}) 濃度の増加が必要であることを示してきた。本会では、ジンジパインによる COX-2 発現における細胞内 Ca^{2+} の供給メカニズムを調べたので報告する。ジンジパインによる COX-2 発現に関わる細胞内 Ca^{2+} の供給は、細胞外からの流入、あるいは小胞体等の細胞内貯蔵に由来するのかを検討した。細胞外からの供給については細胞外 Ca^{2+} キレート剤である EGTA を用いて調べ、細胞内貯蔵からの供給については小胞体膜状の Ca^{2+} -ATPase 阻害剤である Thapsigargin (TG) を用いて調べた。これらの阻害剤でそれぞれ前処理した THP-1 細胞を用いて、*Pg* の感染実験を行なった。COX-2 の発現は特異的抗体を用いた Western blotting 法により評価した。THP-1 細胞に対する *Pg* 感染による COX-2 の発現は EGTA 処理により減少し、TG 処理により増加した。TG 処理では細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇することで COX-2 発現が亢進し、EGTA 処理では EGTA の Ca^{2+} キレート効果により細胞外 Ca^{2+} の減少が COX-2 の発現の減少につながったことが示唆された。したがって、ジンジパインによる COX-2 発現誘導において、細胞外 Ca^{2+} が細胞内へ流入することにより、細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇したことで COX-2 の遺伝子発現につながったと考えられた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-28 The molecular mechanism between COX-2 expression and calcium influx by *P. gingivalis* gingipains

○Nakayama M^{1,2}, Naito M³, Nakayama K³, Ohara N^{1,2}

¹Dept Oral Microbiol, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ²ARCOCS, Dent Sch, Okayama Univ; ³Dept Microbiol Oral Infect, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ

Porphyromonas gingivalis (*Pg*) is an oral bacterium deeply involved in chronic periodontitis that has COX-2 expression and PGE2 production. We have showed that *Pg* gingipains were involved in COX-2 expression and PGE2 production in THP-1 cells. In this study, we examined whether the intracellular calcium (Ca^{2+}) supply on gingipains-induced COX2 expression was caused by extracellular Ca^{2+} influx or intracellular storage such as endoplasmic reticulum. The inhibitor was utilized an extracellular Ca^{2+} chelator, EGTA, which was used to examine the extracellular supply, and Ca^{2+} -ATPase inhibitor Thapsigargin (TG), which was used to examine the supply from intracellular storage. We pretreated THP-1 cells with these inhibitors and infected *Pg* to the cells. The expression of COX-2 was evaluated by Western blotting using a specific antibody. The expression of COX-2 in *Pg*-infected THP-1 cells was decreased by EGTA treatment and increased by TG treatment. It was suggested that TG treatment enhanced COX-2 expression by increasing intracellular (Ca^{2+}), and that EGTA treatment caused a decrease in extracellular Ca^{2+} , leading to a decrease in gingipains-induced COX-2 expression. Therefore, it was considered that gingipain-induced COX-2 expression was caused by the influx of extracellular Ca^{2+} into the cells, and subsequently by the increase in intracellular Ca^{2+} concentration.

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

P1-29 血漿と赤血球におけるテトラヒドロビオプテリンとジヒドロビオプテリンの濃度変化についての研究

○大橋 晶子, 高橋 富久

日大 歯 解剖 I

【目的】 テトラヒドロビオプテリン (BH4) は一酸化窒素合成酵素 (NOS) の補因子であり, NOS の二量体の維持にも関わる. 内皮細胞性 NOS (eNOS) の機能不全に起因する高血圧, 動脈硬化, 腎炎, 糖尿病などは, BH4 に対して酸化型であるジヒドロビオプテリン (BH2) の相対量が高いことが知られている. eNOS 機能不全では eNOS に結合していた BH4 が BH2 に置き換わることによって, 二量体構造が崩壊し, 活性酸素種が生成され, その結果, 血管組織の傷害と BH4 の酸化が促進する. すなわち eNOS 機能を維持する主要な因子は内皮細胞内の BH2 量であり, これは血液に含まれる BH2 量と相関すると考えられている. しかし, BH4 投与後の血漿および赤血球中の BH4 と BH2 の相関についてはほとんど知られていない. 本研究では血漿と赤血球における BH4 と BH2 の濃度変化の動態について検討した.

【方法】 ラットから採取した血液に BH4, および BH2 を添加し (100 microM), 37°C でインキュベートし, 全血, 血球および血漿中の BH4 と BH2 の濃度を 5 時間後まで経時的に定量した.

【結果および結論】 BH4 添加後, 血漿 BH4 量は 0.30 nmol/mL/min の初期速度で減少し, 逆に赤血球 BH4 量は 0.26 nmol/mL/min の初期速度で増加した. また, BH2 添加によって, 血漿 BH2 量は 0.42 nmol/mL/min の初期速度で減少し, 赤血球 BH4 量は 0.25 nmol/mL/min の速度で増加した. これは, 赤血球のジヒドロ葉酸還元酵素が BH2 を BH4 に還元したことを示唆する. これらの結果から, 1) 赤血球は血漿中の BH4 と BH2 を濃度依存的に輸送すること, 2) 赤血球は BH2 を BH4 へと還元する高い能力をもつことが明らかになった.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P1-29 Dynamic change of tetrahydrobiopterin and dihydrobiopterin in plasma and erythrocytes

○Ohashi A, Takahashi T

Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent

Tetrahydrobiopterin (BH4), a cofactor of nitric oxide synthase (NOS), is required for active dimer formation of endothelial NOS (eNOS). In eNOS dysfunction reported such as in hypertension, arteriosclerosis, nephritis and diabetes, BH4 bound to eNOS was replaced by dihydrobiopterin (BH2). The substitution of BH4 bounded with eNOS for BH2 causes the dissociation of eNOS dimer formation, resulting in the accumulation of reactive oxygen species and vascular injury. However, there are few reports on the kinetics change between BH4 and BH2 in blood after administration of BH4 or BH2. In order to elucidate the relationship between BH4 and BH2, the variation of BH2 and BH4 concentrations in plasma and erythrocytes from rat blood were measured in using HPLC system. After addition of BH4 in blood, the plasma BH4 was decreased at an initial rate of 0.30 nmol/mL/min. Reversely, the erythrocyte BH4 was increased at a rate of 0.26 nmol/mL/min. BH2 administration led to the decrease of plasma BH2 at an initial rate of 0.42 nmol/mL/min, but the erythrocyte BH4 was increased at a rate 0.25 nmol/mL/min. These results revealed that 1) oxidation of BH4 in the plasma is minimal, and 2) erythrocytes have a high ability to reduce BH2 to BH4.

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

P1-30 口腔粘膜疾患の新規動物モデルの開発

○竹内 麗理¹, 松本 裕子², 平塚 浩一¹

¹日大 松戸歯 生化, ²日大 松戸歯 薬理

【目的】口腔粘膜炎は、口腔内の潰瘍を形成する炎症性疾患として今も昔も、先進国・開発途上国問わず世界中で知られている。この疾患は、がん治療の有害事象の一つであり、放射線療法や抗がん剤の副作用として口腔内に発生し、がん治療の延期や投薬量の変更を余儀なくされる。さらに、患者に自覚的苦痛をもたらす、疼痛による食事摂取量の減少やコミュニケーション機能の低下により患者 QOL を著しく低下させる。口腔粘膜炎の研究は主にヒト臨床サンプルを用いて行われているが、実験動物を使った *in vivo* 実験は確立されていない。本研究では、口腔粘膜炎の疾患モデル動物の開発を試みた。

【方法】セボフルラン麻酔下で、ラット舌表面に 100 °C に熱した六角棒スパナ（直径 3 mm, クロモモリブデン鋼製, 株式会社エイト）を無圧にて 3 秒間接触し、口腔粘膜炎様症状を誘発した（実験群）。24 時間後に、セボフルラン麻酔下で舌の規格化写真を撮影し、また安楽死後、病変部およびその周囲の舌組織を一塊に採取し、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色法により組織標本を作製した。また対照として無処置ラットで、舌の規格化写真を撮影し HE 染色標本を作製した（対照群）。

【結果】病変部において口腔粘膜炎様所見が得られた。上皮下結合組織へと及ぶ上皮欠損による潰瘍形成が認められた。上皮下結合組織や筋組織は高度に壊死・変性をおこしており、潰瘍部を中心に好中球浸潤が認められた。

【結論】本研究で作製したラットモデルを用い、今後、口腔粘膜炎のメカニズム解明や治療法の確立を目指す。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-30 A new animal model for investigation of the oral mucositis disease

○Takeuchi R¹, Matsumoto H², Hiratsuka K¹

¹Dept Biochem Mol Biol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo; ²Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo

Purpose: This investigation was performed to establish a new animal model of oral mucositis, the common ulcerative disease of mucous membranes of the mouth.

Methods: Eight-week-old male Wistar rats were used in the experiments. Oral mucositis was induced by the following methods: under anesthesia, 100 °C chrome molybdenum wrench (ø 3 mm) was applied to the rat tongue for 3 sec without pressure. At 24 hours after the application, the oral mucositis area was taken photos and the tissue samples of its area were collected for histological analysis. And then the staining with hematoxylin and eosin was carried out.

Results: On hours 24 after the induction of oral mucositis, it was found the blister formation and the ulceration with epithelium separation. An infiltration of inflammatory cells into the dermis was found.

Conclusion: In the future research, the pathogenesis of the oral mucositis and the therapy of that might be investigated using this model.

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

P1-31 ミトコンドリア蛋白のアスパラギン残基脱アミド化による肺胞上皮細胞に及ぼす効果

○小笠原 正人¹, 衣斐 美歩², 入江 太郎²

¹岩医大 歯 薬理, ²岩医大 歯 病理

【背景】肺線維症, 慢性閉塞性肺疾患など慢性肺疾患の病態進行には加齢が関連している. II型肺胞上皮は肺の障害時には幹細胞として働き, 部分的な肺再生に関与する. II型肺胞上皮は脂質とタンパク質からなるサーファクタントを産生し, 脂質成分は脂肪滴の形で供給される. 脂肪滴はサイズの小さいものから次第に癒合を繰り返し大きいサイズへ成長していく. 電子顕微鏡での観察では脂肪滴はミトコンドリアとの直接の細胞内小器官のクロストークが指摘されている. 我々はミトコンドリア蛋白質の Prohibitin1 (PHB1) 蛋白質に注目した. PHB1はミトコンドリアの形態維持に重要な役割を果たす. アスパラギン残基の脱アミド化によりアスパラギン酸残基に変化し, その後, 一部は異性体化アスパラギン酸残基へ変化する. この過程は非酵素的反応で加齢によって促進される. そこで, アスパラギン残基の脱アミド化による翻訳後修飾の脂肪滴形成に対する効果を検討した.

【方法】アスパラギン残基をアスパラギン酸 (N24D および N226D) に変えた PHB1 を発現する安定細胞株を樹立し, ミトコンドリア形態, 脂肪滴の形態, 脂肪滴関連蛋白質 perilipin-1~5 の遺伝子発現を検討した. N24D 変異を認識するモノクローナル抗体を作成し, 加齢マウス肺での発現を検討した. また, 加齢マウス肺での脱アミド化アスパラギン残基に検討を行った.

【結果】N24D および N226D 発現細胞では癒合拡大した脂肪滴の増加と脂肪滴形成に関与する蛋白質 perilipin-1,-2,-3 発現の増加, perilipin-4, -5 発現の低下を示した. 加齢マウス肺では N24D 変異型 PHB1 の増加が認められた.

【結論】PHB1 N24D 変異は脂肪滴形態を変化させ, 加齢現象との関連が示唆された.

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する.

P1-31 Effects of mitochondrial proteins with modified asparagine residues on alveolar epithelial cells

○Ogasawara M¹, Ibi M², Irie T²

¹Dept Pharmacol, Sch Dent, Iwate Med Univ; ²Dept Pathol, Sch Dent, Iwate Med Univ

Purpose: Alveolar type II cells are characterized as containing surfactant, which is produced in the cells and are constituted with specific proteins and lipids. Lipid compartment of surfactant in lipid droplets are documented to be physically associated with mitochondria and supposedly involvement of energy production. Prohibitin1(PHB1) is localized in inner membrane of mitochondria and play a crucial role in maintaining mitochondrial structures. Asparagine residues are non-enzymatically subjected to deamidation turning into aspartic acid. We investigated the effects of deamidated PHB1 on mitochondria and lipid droplets formation.

Materials & Methods: Utilizing A549 cells, we generated stably transformed types of cells expressing four types of PHB1 (control, WT, N24D, N226D). Mitochondria structures, number and size of lipid droplets, and gene expressions of lipid droplets associated proteins were investigated. Furthermore, to detect N24D modification of PHB1, monoclonal antibodies against N24D PHB1 were generated for investigation of aged lung in mice.

Results: Cells expressing N24D and N226D indicated larger size of lipid droplets, increased perilipin-1,-2,-3, and decreased perilipin-4,-5. Increased protein expression of PHB1(N24D) were detected in aged lung of mice.

Conclusion: The deamidated PHB1 affect the structures of lipid droplets and suggestively associated with lung aging.

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

P1-32 Netrin-1 は BMP-Smad シグナルとクロストークし悪性黒色腫の移動と浸潤を亢進する

○後藤 晶乃, Addison William, 水田 奏, 松原 琢磨, 古株 彰一郎

九歯大 分子情報生化

【目的】 Netrin-1 はさまざまな悪性腫瘍で発現が亢進し, 腫瘍の増殖, 移動, 浸潤に関与する. Netrin-1 が利用する 7 種類の受容体の 1 つに Neogenin があり骨形成タンパク質 (BMP) の補助受容体として働き BMP-Smad シグナルを増強させる. しかしながら BMP-Smad シグナルは腫瘍の悪性度に影響を与えるにもかかわらず, 悪性腫瘍における Netrin-1 と BMP-Smad シグナルのクロストークは知られていない. そこで今回われわれは悪性黒色腫細胞の増殖, 移動, 分化における Netrin-1 の役割と BMP-Smad シグナルを介したメカニズムの検討を行った.

【材料・方法】 細胞はマウス悪性黒色腫株 B16 を用いた. マウス Netrin-1 を遺伝子導入し恒常的に Netrin-1 を過剰発現するクローンを樹立した. 細胞は rhNetrin-1 と LDN-193189 で処理した. Netrin-1 の受容体の発現を q-PCR を用いて検討を行った. Id-1-luc を用いたレポーターアッセイを行った. 細胞の増殖は Cell Counting Kit-8, 移動は Scratch assay, 浸潤は Invasion assay でそれぞれ定量した.

【結果】 Netrin-1 は B16 細胞の増殖には影響しなかったが, 移動や浸潤を促進し, さらに浸潤に関与する MMP-9 の発現や酵素活性を増加させた. Netrin-1 処理を行うと受容体の 1 つである Neogenin の発現の上昇がみられた. また, Netrin-1 と BMP-2 の過剰発現は相乗的に BMP-Smad シグナルの標的遺伝子 Id-1 発現を増加させた. さらに, BMP-Smad シグナルの特異的阻害剤 LDN-193189 を添加すると Netrin-1 が誘導する細胞の移動・浸潤の亢進が解除された.

【結論】 Netrin-1 は BMP シグナルを介して悪性黒色腫の移動と浸潤を亢進させる.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P1-32 The cross-talk between Netrin-1 and BMP-Smad signaling promotes migration and invasion of Malignant Melanoma

○Goto A, Addison WN, Mizuta K, Matsubara T, Kokabu S

Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ

Netrin-1 is highly expressed in various malignant tumors and has been linked to tumor cell proliferation, migration, and invasion. Neogenin, a Netrin-1 receptor, also functions as a bone morphogenetic protein (BMP) co-receptor. BMP signaling, mediated by Smad transcription factors, is known to affect tumor malignancy. However, the effects of cross-talk between Netrin-1 and BMP-Smad signaling in malignant tumors are unknown. Here in this study, we investigated the effects of Netrin-1 and BMP-Smad interactions on B16 malignant melanoma cells. Treatment of B16 cells with recombinant Netrin-1, and overexpression of Netrin-1, did not affect proliferation. However, scratch and invasion assays showed that Netrin-1 treatment and overexpression significantly promoted B16 cell migration and invasion. Gene expression analysis by qPCR showed that Netrin-1 treatment increased the expression of Neogenin and the BMP-Smad target gene Id-1. Co-treatment of cells with recombinant BMP2 together with Netrin-1, led to synergistic activation of Id-1 mRNA expression. Furthermore, treatment of B16 cells with LDN-193189, a specific inhibitor of BMP-Smad signaling, abolished the enhancement of cell migration and invasion by Netrin-1. Taken together, our data suggests that Netrin-1 and BMP-Smad signaling act cooperatively to enhance migration and invasion of malignant melanoma.

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

P1-33 HER2 過剰発現乳癌におけるタンパク小分子 (Affibody) を用いた近赤外光免疫療法

○山口 晴香, 森田 貴雄

日歯大 新潟生命歯 生化

近赤外光免疫療法とは、光感受性物質 (IR700) とモノクローナル抗体の結合体を近赤外光の照射により活性化し、特異的に標的癌細胞のネクロシスを引き起こす新しい癌治療法である。私達は、モノクローナル抗体の代わりに、タンパク小分子である Affibody を用いて HER2 過剰発現乳癌に対する光免疫療法を行った。HER2 タンパク (EGFR2) はおよそ 20% の乳癌に過剰発現すると言われている。Affibody はおよそ 6kDa~7kDa と小さいため腫瘍深部にも容易に到達し、正常細胞との境界にも厳密に結合するという特長がある。このため、従来の光免疫療法では対象と成りにくい癌を治療できる可能性がある。HER2 過剰発現乳癌細胞として SKBR3, BT474, MDAMB361 (乳癌脳転移), JIMT1 (分子標的薬抵抗性乳癌)、コントロールとして HER2 陰性乳癌細胞の MDAMB231, MDAMB468 を用いて光免疫療法の効果を確認した。細胞培養培地に Affibody-IR700 結合体を添加した後、690nm の波長の近赤外光を細胞培養プレートの底より 0J ~ 60J 照射し、アラマーブルーを用いて細胞生存率を求めた。HER2 過剰発現細胞において光免疫療法後の細胞生存率はほぼ 0% であり、同様に光免疫療法を行ったコントロールの細胞は細胞生存率ほぼ 100% を維持していた。HER2 過剰発現細胞の生存率は光免疫療法から 5 日後でも低レベルで維持されていた。また、高濃度の HER2 Affibody-IR700Dye 結合体のみ、または高用量の近赤外光照射のみでは細胞生存率に影響はなかった。本研究により、Affibody を用いた光免疫療法で、HER2 過剰発現乳癌を治療することが出来た。今後は動物を用いて Affibody-IR700 結合体の効果を検討する。Affibody と IR700Dye は現在臨床で使用されている製剤であることから、本研究の治療法はスムーズに臨床に移行できる可能性がある。さらに、口腔癌など他部位への応用も期待される。

【会員外共同研究者】 ナンフォン・パンタラット, 鈴木孝昌, アンドレアス・エブドキュー

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-33 Near-infrared photoimmunotherapy using a small protein mimetic for HER2-overexpressing breast cancer

○Yamaguchi H, Morita T

Dept Biochem, Nippon Dent Univ Niigata

Near-infrared photoimmunotherapy (NIR-PIT) is a new cancer therapy to cause specific cell death, which is based on monoclonal antibody conjugated to photosensitizer (IR700), activated by near-infrared light irradiation. We investigated NIR-PIT using a small protein mimetic (6-7 kDa), Affibody molecules instead of a monoclonal antibody for HER2 overexpression breast cancer. According to previous researches, HER2 protein (EGFR2) overexpress about 20% breast cancer. NIR-PIT using Affibody has the potential to extend the target cancer because Affibody has rapid clearance and good tumor penetration. In vitro, NIR-PIT using Affibody induced the selective destruction of HER2-overexpressing breast cancer cells (SKBR3, BT474, MDAMB361; Brain metastases of breast cancer, JIMT1; Trastuzumab-resistant breast cancer) without damage to control cells (MDAMB231, MDAMB468). The cell viability of HER2-overexpressing cancer cells maintained at low levels, even 5 days after NIR-PIT. In contrast, treatment with high concentration of HER2 Affibody-IR700 conjugate alone or irradiation with high dose of NIR light alone was without effect on cell viability. Affibody and IR700 are currently used clinically and therefore this approach can be transferred to clinical trials easily. In addition, this approach is expected to be used for other cancers including oral cancer.

Co-authors not in JAOB: Namfon Pantarat, Takamasa Suzuki, Andreas Evdokiou

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

P1-34 ミトコンドリアの機能不全は過酸化水素取り込みを制御するアクアポリン 3, 5, 8 の発現を亢進させ過酸化水素処理によるフェロトーシスを誘導する

○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 応用薬理, ²鹿大 院医歯 歯科保存

ミトコンドリアは独自の DNA (mtDNA) を持ち, ATP 産生のみならず, 細胞死や活性酸素種 (ROS) の産生に関与する細胞内小器官である。また, mtDNA が欠失した 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事が分かっている。本研究ではがん細胞由来の ρ^0 細胞を用い, H_2O_2 による細胞死とその感受性メカニズムを解析した。

ρ^0 細胞に H_2O_2 処理を行い, Annexin V および鉄依存性細胞死であるフェロトーシスのマーカーである Liperfluo で染色を行うと, H_2O_2 処理初期に Liperfluo のシグナルが観察された。細胞質およびミトコンドリア内の Fe^{2+} の量を解析すると, ρ^0 細胞では親株に比べ Fe^{2+} の量が多かった。フェロトーシスを抑制する抗酸化酵素 GPx4 の発現を ρ^0 細胞にて調べたところ, H_2O_2 処理でその発現は亢進しなかった。また, 細胞膜上に存在し H_2O_2 透過性を示すアクアポリン (AQP) 3, 5, 8 の発現を調べた結果, その発現は ρ^0 細胞で亢進していた。ミトコンドリア機能を司るプロhibitin (PHB) 2 の発現は ρ^0 細胞で低下しており, 親株を用いてこの PHB2 の発現を抑制すると, AQP の発現が亢進した。代表的な脂質過酸化のマーカーである 4-HNE による免疫染色を行うと, ρ^0 細胞では脂質の過酸化が亢進していたが, siRNA を用いてアクアポリンの発現を抑制すると, H_2O_2 処理による脂質の過酸化と H_2O_2 感受性がキャンセルされた。さらに, 繊維芽細胞由来のミトコンドリアを ρ^0 細胞に移植したところ, PHB2 の発現が上昇し H_2O_2 感受性を示さなくなった。以上の結果より, H_2O_2 感受性は, ミトコンドリアによって制御されており, ミトコンドリア内の PHB2 が AQP の発現を抑制することにより細胞死, 特にフェロトーシスを制御していることが示唆された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-34 Mitochondrial dysfunction enhances hydrogen peroxide-induced ferroptosis by up-regulating the expression of aquaporin3, 5, and 8

○Tomita K¹, Taka Y^{1,2}, Igarashi K¹, Nishitani Y², Sato T¹

¹Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci; ²Dept Restorat Dent Endodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

Mitochondria have their own DNA (mtDNA) and are involved in ATP production, cell death, and reactive oxygen species (ROS) production. The mtDNA depleted ρ^0 cells show sensitivity to hydrogen peroxide (H_2O_2). In this study, we investigated cell death and its sensitivity mechanism of the ρ^0 cells by H_2O_2 treatment.

When the ρ^0 cells were treated with H_2O_2 and stained with Annexin V or ferroptosis marker, Liperfluo, strong Liperfluo signal was observed after the H_2O_2 treatment. The amount of Fe^{2+} was higher in ρ^0 cells than that of parental cells. The expression of the antioxidant enzyme GPx4 was not enhanced by H_2O_2 treatment in ρ^0 cells. The expression of aquaporin (AQP) 3, 5, 8 were up-regulated in ρ^0 cells. Prohibitin (PHB)2 expression was decreased in ρ^0 cells, and suppression of PHB2 enhanced the AQP expression. Lipid peroxidation was enhanced in ρ^0 cells and the lipid peroxidation and H_2O_2 sensitivity were canceled by siAQPs after H_2O_2 treatment. When mitochondria were transferred into ρ^0 cells, the expression of PHB2 was increased and H_2O_2 sensitivity was lost. These results suggest that H_2O_2 sensitivity is regulated by mitochondria and that PHB2 in mitochondria regulates cell death, especially ferroptosis, by suppressing AQP expression.

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

P1-35 Plectin は悪性黒色腫の増殖，移動，接着を制御する

○Mizuta Kana, 松原 琢磨, 後藤 晶乃, Addison William, 古株 彰一郎

九歯大 分子情報生化学

【目的】悪性黒色腫は粘膜や皮膚に発生する悪性腫瘍である。進行性が早く、早期から全身に転移するため予後が悪い。悪性黒色腫の悪性化に、がん遺伝子 Src が関与することが知られている。われわれは、これまでに細胞骨格の架橋やシグナル伝達の足場として機能する Plectin が、Scr の活性化に不可欠であることを見出した。そこで本研究では、悪性黒色腫細胞株における Plectin の機能を検討した。

【方法と結果】まずはじめに、NCBI GEO を用いて Plectin の遺伝子発現量解析を行った。その結果、健常皮膚に比べて悪性黒色腫では Plectin の発現量が高かった。次に、マウス悪性黒色腫細胞株 B16 細胞にゲノム編集用 CRISPR ベクターを遺伝子導入し、Plectin 遺伝子欠損細胞 (PKO) を作製した。悪性黒色腫細胞における Plectin の細胞増殖能への影響を検討するために、WST1 assay およびリアルタイム PCR 法を行った。その結果、control 細胞と比べて PKO は、WST1 assay で殖した細胞数の減少、リアルタイム PCR で細胞増殖の指標である CyclinD1 の発現量の低下を認めた。また、Scratch assay では PKO の細胞移動量は減少していた。さらに、フィブロネクチンをコーティングしたディッシュに細胞を播種し、2 時間後に接着した細胞数を数えたところ、PKO では接着した細胞数が減少していた。最後に、Hanging Drop によるスフェロイドの形成を評価したところ、control 細胞と比べて PKO では、細胞同士の間隔は広がり、見かけ上細胞塊は大きくなっていた。

【結果】Plectin は悪性黒色腫細胞で発現量が高く、細胞の増殖や移動、接着凝集に関与する。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-35 Plectin controls the growth, migration and adhesion of malignant melanoma

○Mizuta K, Matsubara T, Goto A, Addison WN, Kokabu S

Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ

Malignant melanoma (MM) develops in the mucosa and skin and metastasizes even in early stage. The oncogene Src is involved in malignancy of MM. We found that Plectin, scaffold for cytoskeleton cross-linking and signaling, is essential for Scr activation. Therefore, in this study, we investigated the function of Plectin in MM cell lines. At first, the expression level of Plectin was higher in MM than in normal skin by NCBI GEO. Next, we introduced the gene-editing CRISPR vector into mouse MM cell line B16 cells to prepare Plectin gene-deficient cells (PKO). Cell proliferation was examined by WST1 assay and real-time PCR. As a result, PKO was a decrease in cell number and CyclinD1 expression. Moreover, the amount of cell migration of PKO decreased in the Scratch assay. Furthermore, we plated cells on a fibronectin-coated dish and counted the number of adhered cells after 2 hours. The number of adhered cells was reduced in PKO. Finally, spheroid formation by Hanging Drop was evaluated. The cell spacing of PKO became wider and the cell mass was larger than control. Altogether, Plectin promotes the growth, migration, adhesion and aggregation of MM cells.

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

P1-36 口腔がん中存在する高内皮細静脈の臨床的意義の検討

○松田 彩¹, 新山 宗^{1,2}, 間石 奈湖¹, 東野 史裕¹, 樋田 京子¹

¹北大 院歯 血管生物分子病理, ²北海道がんセ 口腔腫瘍外科

高内皮細静脈 (High Endothelial Venule, 以下 HEV) は末梢リンパ節及び小腸のパイエル板に存在し, リンパ球が血液からリンパ節へ移動する際に通過する静脈であり, 免疫系の恒常性の維持に関与していることが知られている. HEV が癌組織に存在し, HEV の有無やその数が生命予後と関連することが報告されているが, 口腔癌における HEV の役割はいまだ解明されていない. そこでわれわれは口腔がん組織に存在する HEV の臨床的意義について検討を行った. 北海道大学病院口腔外科及び北海道がんセンター口腔腫瘍外科にて初回治療として手術を施行した舌扁平上皮癌患者を対象とした. CD31 抗体, MECA-79 抗体を用いた免疫染色法により HEV を可視化し, 癌部, 非癌部 (癌辺縁から 5mm 以内) における HEV の数, 構造及び出現部位による評価を行った. 単位面積当たりの HEV 数により HEV 数高値群 (HEVhigh) と HEV 数低値群 (HEVlow) に分類したところ, 癌部では HEVlow と比較し HEVhigh の患者で再発転移が低い傾向がみられ, 一方, 非癌部では HEVhigh と比較し HEVlow の患者で再発転移が低い傾向であった. また癌部の HEV の局在により, 腫瘍辺縁に腫瘍を取り囲むように HEV がみられる群 (HEVca-edge), 腫瘍内部にのみ HEV を認める群 (HEVca-stroma), 癌部に HEV を認めなかった群 (HEVca-non) に分類し検討した. HEVca-edge は術後に再発転移を生じた症例が認められなかったが, HEVca-stroma, HEVca-non では再発転移が認められた. 以上の結果より癌部, 非癌部で HEV の機能が異なることが示唆され, 口腔がんにおいて HEV の評価により生命予後の予測が可能になることが期待される.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P1-36 Clinical significance of high endothelial venules in oral squamous cell carcinoma

○Matsuda A¹, Niiyama T^{1,2}, Maishi N¹, Higashino F¹, Hida K¹

¹Dept Vasc Biol Mol Pathol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ²Dept Oral Tumor Surg, Hokkaido Cancer Center

Recently, high endothelial venules (HEVs) which mediate lymphocyte extravasation into lymphoid organs, are reported to exist in cancer tissues. However, the role of HEV is controversial. In this study, we investigated HEVs and clinical significance in oral squamous cell carcinoma (OSCC). We used the tongue SCC which underwent surgery as the first treatment at Hokkaido University Hospital and Hokkaido Cancer Center. HEVs were visualized by immunostaining for CD31 and MECA-79. According to the number of HEVs, each case was classified into two groups: HEVhigh and HEVlow. When HEVs were analyzed in cancer lesions, HEVlow group showed poor prognosis compared to HEVhigh group. On the other hand, in non-cancer lesions, HEVhigh group showed poor prognosis compared to HEVlow. We also analyzed HEVs depending on their localization in the cancer lesion: at the most invaded area (HEVca-edge), only inside the tumor (HEVca-stroma), none in the cancer lesion (HEVca-non). There was no postoperative recurrent metastasis in HEVca-edge cases, whereas there were recurrent metastases in HEVca-stroma and HEVca-non. In conclusion, the function of HEVs may be different depending on their localization.

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

P1-37 癌組織における免疫抑制環境の形成におよぼすミダゾラムの影響

○神谷 真子¹, 松並 晃弘^{2,3}, 安藤 恵³, 上野 恭平³, 梅村 直己³, 川木 晴美³, 高山 英次³, 村松 泰徳², 智原 栄一⁴, 近藤 信夫³

¹朝日大 経営 化学, ²朝日大 歯 口外, ³朝日大 歯 口腔生化, ⁴朝日大 歯 外科

【目的】近年、周術期に用いられる麻酔薬が免疫系を攪乱することで、がん患者の長期予後に影響を与える可能性が示唆されている。我々は、マウス口腔扁平上皮癌細胞株 Sq-1979 と同系マウスの胎仔線維芽細胞株 10T1/2 を単独あるいは組合せて刺激脾細胞と共培養することで、間質細胞を含む腫瘍組織内微小環境モデルを構築し、10T1/2 が刺激脾細胞の Th1 型免疫反応を抑制的に調節し、Sq-1979 由来の液性因子 IL-1 α がこの 10T1/2 の作用を増強していることを明らかにしている (Morimoto-Ito H, 2019)。そこで本研究では、麻酔導入薬・鎮静薬の一つであるミダゾラムが、10T1/2 と Sq-1979 の免疫調節機能に及ぼす影響を検討した。

【方法】脾細胞は C3H/HeN マウスより単離し、10T1/2 単独あるいは Sq-1979 の馴化培地存在下で、抗 CD3 抗体を用いて脾細胞中の T 細胞を特異的に 48 時間刺激した。培養後のインターフェロン (IFN) - γ 産生量および馴化培地中の IL-1 α 量は ELISA 法にて測定した。ミダゾラムの添加効果は、脾細胞、10T1/2, Sq-1979 細胞すべての viability が維持できている 0 ~ 5 μ g/mL で検討した。

【結果と考察】単独培養時の脾細胞からの IFN- γ 産生量は、ミダゾラム (5 μ g/mL) を添加しても有意な変化は認められなかった。10T1/2 による脾細胞 IFN- γ 産生能の抑制作用は、ミダゾラム添加群で解消され、10T1/2 単独あるいは Sq-1979 馴化培地存在下いずれの場合も、ミダゾラムの濃度依存的に IFN- γ 産生能の回復が認められた。一方、Sq-1979 からの IL-1 α の放出量については、0 ~ 10 μ g/mL の範囲でミダゾラム濃度依存的な変化を認めなかった。以上の結果から、低濃度のミダゾラムは 10T1/2 細胞の機能を攪乱し、癌組織内での Th1 型免疫反応を改変す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。

P1-37 The effects of midazolam on the immune suppression in the microenvironment of oral squamous cell carcinoma tissue

○Kamiya M¹, Matsunami A^{2,3}, Ando M³, Ueno K³, Umemura N³, Kawaki H³, Takayama E³, Muramatsu Y², Chihara E⁴, Kondoh N³

¹Chem Lab, Fac Business Admin, Asahi Univ; ²Dept Oral Maxillofac Surg, Fac Dent, Asahi Univ; ³Dept Oral Biochem, Fac Dent, Asahi Univ; ⁴Dept Surg, Fac Dent, Asahi Univ

We have established an *in vitro* model for tumor microenvironment mimicking tumor-specific immunity, using co-culture system. In this co-culture system, we revealed that 10T1/2, a fetal fibroblast cell line, suppressively regulates the immune response of stimulated splenocytes and that the humoral factor IL-1 α derived from Sq-1979, a mouse oral squamous cell carcinoma cell line, enhances the action of 10T1/2. In this study, we examined the effect of midazolam, a sedative drug, on the immunomodulatory function of 10T1/2 and Sq-1979. Splenocytes isolated from C3H/HeN mice, were stimulated for 48 hours using anti-CD3 antibody with 10T1/2 and/or Sq-1979 conditioned medium. The amounts of cytokines were measured by ELISA. The effect of midazolam was examined at 0 to 5 μ g/mL in which the viability of all splenocytes, 10T1/2 and Sq-1979 was maintained.

Midazolam hardly affected IFN- γ production from splenocytes. The suppressive effect of 10T1/2 on the IFN- γ production from splenocytes was markedly reduced by midazolam. The midazolam restored the IFN- γ production suppressed by 10T1/2 in the presence or absence of CM of Sq-1979. The amount of IL-1 α released from Sq-1979 was hardly changed by midazolam. These results suggest that midazolam may act on 10T1/2 and alter the immune response in the cancer tissue.

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

P1-38 口腔粘膜病変における S100a8, S100a9 の発現解析

○中尾 寿奈, 江原 道子, 落合 隆永, 松岡 太相, 永山 元彦

朝日大 歯 口腔病理

【目的】 S100a8 (calgranulin A), S100a9 (calgranulin B) は S100 protein family に属するカルシウム結合性タンパクで、これらは一般的に炎症細胞での発現および炎症性疾患での増加が知られているが、上皮細胞での発現や腫瘍関連分子として様々な臓器におけるがんとの関連も報告されている。口腔粘膜上皮の腫瘍性病変には扁平上皮癌、その前駆病変として上皮性異形成が挙げられるが、対応した分子生物学的診断基準には未だ乏しく客観的指標の確立が望まれる。そこで新たな口腔粘膜上皮腫瘍性病変診断基準の指標として S100a8, S100a9 がなり得る可能性を、免疫組織化学的に検索したので報告する。

【方法】 検索には朝日大学歯学部医科歯科医療センター口腔外科で切除され、病理組織学的診断に診断された扁平上皮癌 (7例)、上皮内癌・上皮性異形成 (7例)、上皮性過形成 (5例) 症例ならびに切除範囲に含まれる正常粘膜のホルマリン固定パラフィン標本を用いた。各標本は抗 S100a8, 抗 S100a9 抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、発現の局在を比較検討した。

【結果と考察】 S100a8, S100a9 は、正常粘膜の上皮細胞では、棘細胞の核と細胞質に陽性で、基底細胞・傍基底細胞の核と細胞質に陰性であった。扁平上皮癌では、浸潤する癌胞巢の中心部に陽性を示し、胞巢辺縁の細胞に陰性であった。上皮内癌・上皮性異形成症例では、正常の棘細胞と比較し核における発現の減弱を認めた。また腫瘍の間質反応として浸潤する炎症細胞に陽性を認めた。これらの結果より、S100a8, S100a9 の発現は上皮細胞の腫瘍性変化のみならず分化度と関連していると考えられ、上皮腫瘍性病変のバイオマーカーとしての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。

P1-38 The expression of S100a8 and S100a9 in oral mucosal lesion

○Nakao J, Ehara M, Ochiai T, Matsuoka T, Nagayama M

Dept Oral Microbiol, Fac Dent, Asahi Univ

S100a8 (calgranulin A) and S100a9 (calgranulin B) are known as members of inflammatory relevant S100 proteins. Previous studies suggested S100a8 and S100a9 are related to epithelial cells and various cancer, however, its roles are still unknown. There are few useful molecular biological biomarkers for the diagnosis and prediction of prognosis of oral squamous cell carcinoma and epithelial dysplasia. Immunohistochemistry for S100a8 and S100a9 were performed to examine the expression in human oral squamous cell carcinoma, carcinoma in-situ, epithelial dysplasia and epithelial hyperplasia of gingiva and tongue. The normal epithelial cells showed S100a8 and S100a9 positive at prickle cell layer, but negative at basal and para-basal layer. The tumor cells at the center of nests showed positive and peripheral cells showed negative in SCC. Interestingly the atypia cells in epithelial dysplasia showed the decreasing their positivity at nuclear. Besides these molecules were strongly positive for tumor-associated inflammatory cells. The results suggested that S100a8 and S100a9 relate to tumorigenesis and epithelial differentiation.

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

P1-39 頭頸部扁平上皮癌特異的癌関連遺伝子 DKK3 の機能ドメイン同定

○片瀬 直樹, 藤田 修一

長大 院医歯薬 口腔病理

【目的】我々はこれまでに、頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）において DKK3 遺伝子が Akt の活性化を促進し、癌細胞の悪性度を規定する因子として機能することを報告してきた。結果からは DKK3 による Akt 活性化には、何らかのレセプターを介した経路と、細胞内の DKK3 が mTOR complex を介する経路が想定されることから、DKK3 と他のタンパクの相互作用を遮断することで腫瘍制御が可能になる可能性が示唆されている。本研究では DKK3 をターゲットとした創薬の可能性を模索するため、DKK3 の機能ドメインを同定した。

【方法】DKK3 発現プラスミドを template として inverse PCR を行い、機能ドメインの候補である 2 つの cysteine rich domain (CRD1, CRD2) のどちらか一方、または両方を削除した mutant 発現プラスミド (DKK3 Δ C1, DKK3 Δ C2, DKK3 Δ C1 Δ C2) を作製した。これらのプラスミドをヒト舌癌由来 HSC-3 細胞に transfection し Akt のリン酸化を western blotting で確認した。また、細胞の増殖能と遊走能への影響を検討するため MTT assay と wound healing assay を行った。

【結果と考察】Akt のリン酸化は DKK3, Δ C1 では上昇したが Δ C2, Δ C1 Δ C2 では低下した。細胞増殖は DKK3, Δ C1, Δ C2 では control よりも有意に上昇したが、 Δ C1 Δ C2 では control よりも有意に低下した。遊走能は DKK3, Δ C1, Δ C2 では control よりも有意に上昇したが、 Δ C1 Δ C2 では control レベルにまで低下した。以上から、DKK3 をターゲットとした腫瘍細胞の制御には CRD1, CRD2 のどちらか一方の抑制では不十分であり、その両方を同時に抑制することが必要であると考えられた。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-39 Identification of functional domain of DKK3, a head and neck squamous cell carcinoma-specific cancer associated gene

○Katase N, Fujita S

Dept Oral Pathol, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ

We previously reported that DKK3 exerts oncogenic roles in HNSCC through activation of Akt. Our data have suggested that secreted DKK3 may activate Akt by stimulating some receptors and that intracellular isoform DKK3b may activate Akt via mTOR complex. Thus, it is necessary to inhibit protein-protein interaction between DKK3 and its effectors to establish DKK3-targeted therapy. For this purpose, we identified the functional domain of DKK3. We generated mutant DKK3 expression plasmids by invert PCR, which lack their putative functional domains (cysteine rich domain (CRD)); named Δ C1, Δ C2 and Δ C1 Δ C2. Transfection of DKK3 and Δ C1 did not affect the phosphorylation of Akt, while transfection of Δ C2 and Δ C1 Δ C2 decreased Akt phosphorylation. Transfection of DKK3 significantly elevated cellular proliferation and migration of HNSCC-derived cells. Transfection of Δ C1 and Δ C2 did not decrease cellular proliferation, while Δ C1 Δ C2 significantly decreased cellular proliferation. As for cellular migration, transfection of Δ C1 or Δ C2 still elevated cellular migration but that of Δ C1 Δ C2 was decreased as low as control. The data suggested that it is necessary to inhibit both CRDs of DKK3 to inhibit oncogenic function of DKK3.

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

P1-40 腫瘍微小環境における間質細胞の免疫抑制作用に対するブラジル産プロポリス (BP) の作用

○安藤 恵¹, 松並 晃弘², 神谷 真子³, 池野 久美子⁴, 上野 恭平¹, 梅村 直己¹, 川木 晴美¹, 高山 英次¹, 中村 源次郎⁴, 近藤 信夫¹

¹朝日大 歯 口腔生化, ²朝日大 歯 口外, ³朝日大 経営 化学, ⁴ (株) 秋田屋本店 研究開発部

【緒言】 プロポリスはマクロファージを含む様々な免疫調節を担う組織の間質細胞に作用することが報告されている (Al-Hariri M, 2019). 我々は, マウス口腔扁平上皮癌 (OSCC) Sq-1979 細胞が放出する IL-1 α を介し, 腫瘍微小環境における間葉系間質細胞の発揮する免疫抑制作用を促進することを報告してきた (Morimoto-Ito H, 2019). 本研究では, BP が腫瘍微小環境に存在する間質細胞成分の免疫調節機能に及ぼす影響を検討した.

【材料・方法】 C3H 由来胎児線維芽細胞, 10T1/2 を様々な希釈倍率 (500 倍 ~ 64000 倍) の BP (エタノール抽出原液) を含む培地 (10% FBS を含む BME) で 48 時間培養し, PrestoBlue により viability を検討した. Viability の維持されている BP 濃度において, 刺激脾細胞および 10T1/2 細胞を混合培養し, IFN- γ などのサイトカイン発現を ELISA 法により比較検討した.

【結果・結論】 BP 希釈培地における 10T1/2 細胞および刺激脾細胞の viability は, 16000 倍以下の濃度でほぼコントロールと同程度の値を維持した. 刺激脾細胞の IFN- γ 産生能は, 10T1/2 細胞との共培養で脾細胞の単独培養に比べ 40% 抑制された. PB 濃度を 64000 倍希釈から段階的に 16000 倍希釈まで上げた培地では, 10T1/2 細胞による抑制率はおよそ 20% にまで減衰した. 以上の事実から, 腫瘍微小環境における間葉系間質細胞の免疫抑制作用は PB により見かけ上減弱することが判明した. さらに, IL-1 α を介した 10T1/2 細胞の免疫抑制促進作用や, マクロファージ系間質細胞の免疫抑制作用に対する PB の影響について現在検討中である.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P1-40 Effects by Brazilian propolis (BP) upon immune regulatory function of mesenchymal stromal cells in tumor microenvironments

○Ando M¹, Matsunami A², Kamiya M³, Ikeno K⁴, Ueno K¹, Umemura N¹, Kawaki H¹, Takayama E¹, Nakamura G⁴, Kondoh N¹

¹Dept Oral Biochem, Fac Dent, Asahi Univ; ²Dept Oral Maxillofac Surg, Fac Dent, Asahi Univ; ³Chem Lab, Fac Business Admin, Asahi Univ; ⁴R&D Dept, Akitaya Honten Co, Ltd

Purpose: We have reported that IL-1A produced by mouse oral squamous cell carcinoma (OSCC) Sq-1979 cells enhances the immunosuppressive effect of mesenchymal stromal cells in the tumor microenvironment (Morimoto-Ito H, 2019). In this study, we investigated the effect of BP on mesenchymal cells exerting immunoregulatory functions in the tumor microenvironment.

Materials and Methods: C3H-derived fetal fibroblasts, 10T1/2, were maintained in BME medium supplemented with 10% FBS. Cells were maintained for 48 hours in diluted BP (ethanol extraction stock solution) at final ratios from 500 to 64000 folds with the medium. Cell viability and the production of IFN- γ was compared and examined by ELISA.

Results and Conclusion: The viability of 10T1/2 cells and stimulated splenocytes was maintained at the same level as the control in BP-diluted medium at a concentration of 16000 fold or less. The production of IFN- γ from stimulated splenocytes was suppressed by 40% in co-culture with 10T1/2 cells. When the PB concentration was gradually increased from the 64000 to 16000 folds dilution, the suppression by 10T1/2 cells was gradually attenuated to about 20%. From these results, it was revealed that PB apparently attenuates the immunosuppressive effect of mesenchymal stromal cells in the tumor microenvironment.

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

P1-41 ブラジル産プロポリス (BP) によるマウス活性化 T リンパ球および口腔扁平上皮癌細胞 Sq-1979 の免疫制御因子の調節

○松並 晃弘¹, 神谷 真子³, 安藤 恵², 池野 久美子⁴, 梅村 直己², 川木 晴美², 高山 英次², 村松 泰徳¹, 中村 源次郎⁴, 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 経営 化学, ⁴ (株) 秋田屋本店 研究開発部

【緒言】 プロポリスは免疫抑制細胞や因子の調節を行うことが報告されている (Kitamura H, 2018; Khosravi AR, 2018). 我々は, マウス口腔扁平上皮癌 (OSCC) Sq-1979 細胞の放出する IL-1 α が, 腫瘍微小環境における間葉系間質細胞を介して活性化 T リンパ球を免疫抑制することを報告してきた (Morimoto-Ito H, 2019). 本研究では, BP が活性化 T リンパ球および Sq-1979 細胞のサイトカイン発現にどのような影響を及ぼすのか検討した.

【材料・方法】 10% FBS を含む RPMI または E-MEM 培地で抗 CD3 抗体刺激脾細胞および Sq-1979 細胞を様々な希釈倍率の BP (エタノール抽出原液を 500 倍~64000 倍に培地希釈) を添加後 48 時間培養し, PrestoBlue により viability を検討した. 抗体刺激脾細胞および Sq-1979 細胞のサイトカイン発現を ELISA 法により比較検討した.

【結果・結論】 BP 500 倍希釈培地の Sq-1979 細胞の viability は未処理コントロール培地の 12%, 4000 倍希釈では 50% 程度にまで抑制されたが, 8000 倍希釈以下の濃度でほぼコントロールと同程度を維持した. Sq-1979 細胞における IL-1 α タンパク質の放出は, BP の上昇に伴い上昇し, 8000 倍希釈では未処理のおよそ 1.7 倍の値を維持した. また, 刺激脾細胞の viability は BP 4000 倍希釈培地で 50%, 8000 倍希釈以下の培地では 80% 以上を示し, 代表的な Th1 サイトカインである IFN- γ の放出は, 生存曲線とほぼ比例して BP の上昇に伴い抑制された. 一方, Th2 サイトカインの IL-10 は, 4000 倍希釈以下の BP を含む培地において BP を含まないコントロール培地とほぼ同レベルの放出が観察され, BP による抑制が起き難いことが示された.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P1-41 Regulation of immune modulators from mouse oral squamous carcinoma cells, Sq-1979, treated by Brazilian propolis (BP)

○Matsunami A¹, Kamiya M³, Ando M², Ikeno K⁴, Umemura N², Kawaki H², Takayama E², Muramatsu Y¹, Nakamura G⁴, Kondoh N²

¹Dept Oral Maxillofac Surg, Fac Dent, Asahi Univ; ²Dept Oral Biochem, Fac Dent, Asahi Univ; ³Chem Lab, Fac Business Admin, Asahi Univ; ⁴R&D Dept, Akitaya Honten Co, Ltd

Purpose: We have reported that mouse oral squamous cell carcinoma (OSCC) Sq-1979 cells release IL-1A and promote the immunosuppressive effect of mesenchymal stromal cells in the tumor microenvironment (Morimoto-Ito H, 2019). In this study, we investigated the effects of Brazilian propolis (BP) on the immune modulatory cytokines in Sq-1979 and spleen cells.

Materials and Methods: BP (ethanol stock solution) was diluted 500 to 64000 folds with E-MEM containing 10% FBS. Sq-1979 cells were cultured for 48 hours and examined cell viability. The expression of cytokines was examined by ELISA.

Results and Conclusion: The viability of Sq-1979 cells in BP of 500 fold dilution was reduced to 12%, and recovered to almost the same levels as untreated cells at less than the 8000 fold dilution. The expression of IL-1A was elevated almost 1.7 times of the untreated cells in BP of 16200 fold dilution. Viability of the spleen cells was reduced to 50% in PB of 4000 fold dilution and more than 80% in less than 8000 fold dilution. Expression of IFN- γ was repressed by BP as the same manner as the cell viability. The expression of IL-10 in BP of 4000 fold dilution was the same as in un-treated cells.

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

P1-42 口腔扁平上皮癌における BP180 の発現制御機構

○安河内 篤^{1,2}, 安河内 (川久保) 友世³, 中村 誠司¹

¹九大 院歯 顎顔面腫瘍制御, ²あつし歯科医院, ³九大 院歯 OBT研究セ

ヘミデスモソーム複合体あるいはその成分の異常な発現は、癌進展に密接に関わっていることが報告されている。なかでも、BP180 (180 kDa bullous pemphigoid autoantigen, Collagen, type XVII, alpha 1) の異常な発現と局在は癌の浸潤・転移に関連していると考えられているが、BP180 発現の分子メカニズムについては未だ解明されていない。

近年、BP180 の発現が、ヒト癌細胞において腫瘍抑制因子である p53 依存的に発現誘導されることが報告されたが、p53 は様々な癌で欠失あるいは変異している場合が多い。そのため、本研究では、口腔扁平上皮癌 (OSCC; Oral squamous cell carcinoma) に発現する BP180 に焦点を当て、OSCC での BP180 の発現が p53 以外の要因で制御されている可能性を非コード RNA に着目して検討した。まず、舌癌 (NA, SAS) および歯肉癌 (Ca9-22, Sa3) の 4 種の OSCC 細胞株を用いて、TP53 遺伝子の変異解析を行った。続いて、BP180 の発現解析は、qPCR, イムノブロット, ルシフェラーアッセイ, および免疫組織学的解析を用いた。

解析の結果、BP180 は、使用したすべての OSCC 細胞株 (NA, SAS, Ca9-22, Sa3) において、p53 の状態に依存せず、マイクロ RNA である miR203a-3p によって調節されていることが確認された。また、DNA 結合ドメインに変異をもつ Ca9-22 および Sa3 においては p53 の活性化と BP180 発現量との相関は得られなかった。

これらのことから、p53 機能の欠失を特徴とする癌細胞では、p53 のみならず、miR203a-3p による BP180 の発現制御が行われている可能性が示唆された。

非会員共同研究者：森岡政彦 (九州大 院歯 顎顔面腫瘍制御)

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-42 The regulation of BP180 expression in oral squamous cell carcinoma

○Yasukochi A^{1,2}, Kawakubo-Yasukochi T³, Nakamura S¹

¹Sect Oral Maxillofac Oncol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Atsushi Dental Clinic; ³OBT Res Center, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

The aberrant expression of hemidesmosomal complexes or their individual constituents has been reported to be closely related to progression of cancers. Especially, the aberrant expression and localization of BP180 (180 kDa bullous pemphigoid autoantigen, Collagen, type XVII, alpha 1), an important adhesion molecule in hemidesmosomal complexes, is thought to be associated with invasion and metastasis in several cancers. However, it has not been elucidated the molecular mechanism of its expression. Previous reports demonstrated that BP180 expression increases in a p53-dependent manner in human cancer cells, however, the tumor suppressor p53 is frequently lost or mutated in various cancers and loss of p53 function is considered a hallmark of malignancy. In this study, we therefore focused on BP180 in oral squamous cell carcinoma (OSCC), examining whether BP180 expression in OSCC is dependent only on p53 or whether other factors affect it. Our results revealed that BP180 was expressed in all OSCC cell lines (NA, SAS, Ca9-22, and Sa3). Though p53 activation hardly affected BP180 expression in Ca9-22 and Sa3 cells with mutated p53. In addition, BP180 was found to be regulated by a microRNA (miRNA), namely miR203a-3p, in all the OSCC cell lines, regardless of p53 status.

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

P1-43 口腔粘膜外傷モデルマウスにおけるラムシルマブの治癒遅延効果

○山田 美喜¹, 飯島 洋介¹, 仲山 奈見¹, 日野 峻輔¹, 金子 貴広¹, 佐野 元彦², 坂上 宏³, 堀江 憲夫¹

¹埼玉医大 総医セ 歯科口腔外科, ²星薬大 薬学教育研究セ 実務教育研, ³明海大 歯科医学総合研

【目的】 がん治療に用いられる血管新生抑制剤であるラムシルマブは、がん組織に対する栄養血管の発育を阻害することで抗がん薬としての作用を発揮する。しかしながら、ラムシルマブには組織の修復機転を遅延させる有害事象がある。今回われわれはラムシルマブの口腔外傷に対する影響を調べる目的で、ラムシルマブ投与マウスに実験的粘膜外傷を作製し、その治癒過程を観察した。また、ラムシルマブの細胞傷害性は、MTT法でヒト間葉系正常細胞（歯肉線維芽細胞 HGF・歯根膜線維芽細胞 HPLF・歯髄細胞 HPC）を用いて測定したのでその概要を報告する。

【方法】 5週齢（20g）のマウスに、混合ガス（1-2% イソフルラン・0.5% 笑気・0.25% 酸素）吸入麻酔下に舌側縁部に長径3mm、短径1mmの粘膜切開創を作製。切開2日前から切開日までマウス腹腔内にラムシルマブ（0.008mg/g）投与したものを実験群とし、ラムシルマブ非投与のマウスをコントロール群とした。細胞傷害性実験では、ラムシルマブを各種ヒト間葉系正常細胞に加え48時間培養しMTT法を用いて相対的細胞生存数を測定した。

【結果・考察】 実験群、コントロール群ともに1日目では創部の上皮被覆は認められなかった。2日目では実験群は引き続き上皮の被覆は認めなかったが、コントロール群では上皮の被覆を認め、3日目ではいずれの群も上皮の被覆を認めた。実験的にラムシルマブが上皮化を含め口腔粘膜の治癒を遅延させることが示唆され、ラムシルマブは口腔正常細胞（HGF,HPLF,HPC）いずれにも細胞傷害性を認めなかった。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-43 Delayed healing effect of ramucirumab in mucosal injury model mouse

○Yamada M¹, Iijima Y¹, Nakayama N¹, Hino S¹, Kaneko T¹, Sano M², Sakagami H³, Horie N¹

¹Dept Oral Maxillofac Surg, SMC, Saitama Med Univ; ²Divi Appl Pharm Educ Res, Pharm Educ Res Center, Hoshi Univ; ³Meikai Univ Res Inst Odontol (M-RIO)

Ramucirumab is an angiogenesis inhibitor, and it exerts an anti-cancer effect by suppressing the growth of feeding vessels to the cancer tissue. But ramucirumab has an adverse effect of delaying the healing of wounds. In this study, to investigate the influence of ramucirumab for oral trauma, experimental mucosal trauma was created in mice treated with ramucirumab and the healing process was observed. The cytotoxicity of Ramucirumab was also measured by MTT method in human mesenchymal normal cells (gingival fibroblast HGF, periodontal ligament fibroblast HPLF, dental pulp HPC). A 5-week-old male (20 g) mice were used. One day before making oral trauma, the mice of experimental group were administered ramucirumab (0.008mg/g) intraperitoneally. The control group was administered normal saline. Under inhalation anesthesia of mixed gas experimental oral trauma of lateral margin of tongue (3-1 mm) was made. The cytotoxic experiment, after adding Ramucirumab, each cells was incubated further for 48h and the relative viable cell number was then determined by the MTT method. On day one, the wound of both experimental and control groups was not covered with epithelium. Epithelial coverage was found on day two in control group, but in the experimental group, delayed epithelial coverage was observed on day three. Ramucirumab had no cytotoxicity on HGF, HPLF, or HPC. It was suggested that ramucirumab experimentally delayed healing of oral mucosal wound including epithelialization.

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

P1-44 EBV 関連悪性リンパ腫モデルマウスの作製 - 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 口外・口腔外科, ²日大 歯 細菌

Epstein-Barr Virus (EBV) は成人のほとんどに感染しているが、異常増殖により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) をヒト化した後、EBV を感染させたマウスが実験に用いられている。EBV 陽性のリンパ増殖性疾患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、1) NOG マウスを用い EBV 陽性悪性リンパ腫モデルマウスの作成を試み、2) 実際の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することにより、モデルマウスとしての有用性を検討した。NOG マウス (実験動物中央研究所) に CD34 陽性ヒト臍帯血を静脈内注射しヒト化させた後、EBV を投与することにより作製した。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た。マウス及びヒトの脾臓切片を作製し、サイトカインや細胞表面マーカーに対する抗体を用い免疫染色を行った。クローナリティ解析はヒト化マウスの切片より DNA を回収し H 鎖の PCR、及びカップとガンマ鎖の免疫染色を行い検討した。免疫染色及びクロー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 (IL-10 や TNF-alpha 等) 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。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P1-44 Producing EBV positive lymphoma model mouse -Compare with Human EBV positive DLBCL-

○Koike R¹, Imai K²

¹Div Oral Surg, Dept Oral Maxillofac Surg, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent

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 author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

P2-01 歯科医学への人工知能の応用

○五十嵐 由里子¹, 近藤 信太郎¹, 金子 美泉², 内木場 文男²

¹日大 松戸歯 解剖, ²日大 理工 精密機械

【目的】人工知能 (AI) を歯科医学に応用するための基礎研究として, ディープラーニング (DL) による歯種鑑別を試行した。

【材料と方法】日本大学松戸歯学部学生 (男性 12 名, 女性 12 名) の上下顎石膏模型において, 隣接面を除く各面を動画撮影し, 静止画像を作成した。対象とした歯種と画像枚数は, 下顎左側の中切歯 (452), 第一大臼歯 (1026), 第一小臼歯 (30124), 第二小臼歯 (28404), 下顎右側の第一小臼歯 (27786), 第二小臼歯 (29687) である。実験 1 では下顎左側中切歯と下顎左側第一大臼歯の鑑別を行い, 実験 2 では下顎左側の第一小臼歯と第二小臼歯, 下顎右側の第一小臼歯と第二小臼歯の鑑別を行った。

【結果と考察】実験 1 では学習率 0.01 で DL を行った結果, エポック数約 80 で正確さが最大 (回帰式と実データの誤差を示す損失関数が最小) となり, 下顎左側中切歯も下顎左側第一大臼歯いずれも一致率が 100% となった。実験 2 では, 学習率 0.01 で DL を行ったところ, エポック数約 20 で正確さが 28% (損失関数値が 1.2) でほぼ一定となり, 学習が失敗した。次に学習率 0.001 としたところ, エポック数 5 で正確さが最大 (損失関数が最小) となった。一致率は下顎右側第二大臼歯で 95%, 下顎右側第一小臼歯で 67%, 下顎左側第二小臼歯で 53%, 下顎左側第一小臼歯で 12% となった。下顎中切歯と大臼歯では歯種を正確に判定することができたが, 下顎小臼歯では正確な歯種判別はできなかった。人でも鑑別が比較的難しい小臼歯の鑑別が AI にとっても難しいことが確認できた。第一小臼歯と第二小臼歯で一致率が異なるのは, 各々の歯種の形態変異の大きさに起因する可能性がある。一致率を上げるためには, 形態変異を網羅する学習サンプルが必要であり, さらにサンプルの材質の工夫が必要であると予想できる。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-01 Application of Artificial Intelligence to Dental Science

○Igarashi Y¹, Kondo S¹, Kaneko M², Uchikoba F²

¹Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent Matsudo; ²Dept Precis Machin Engineer, Coll Sci Technol, Nihon Univ

In order to investigate the effectiveness of artificial intelligence (AI) in identifying the morphology of teeth, we attempted to classify the shape of teeth using a deep learning system. Dental plaster casts were obtained for 24 students at the Nihon University School of Dentistry at Matsudo (12 males and 12 females). The buccal (labial), lingual and occlusal surfaces of the teeth were photographed to obtain static images of the lower left central incisors, first molars, first premolars, second premolars, lower right first premolars and second premolars. The lower left central incisors and molars could be classified with 100% rate of concordance with a model trained using 0.01 as the learning rate. For the lower premolars, the accuracy could not be more than 28% for a 0.01 learning rate model, and rates of concordance were below 100% even for a 0.001 learning rate model. Therefore, the accurate identification of premolars appears to be a difficult task for AI as for humans. This difficulty might result from the variability of the shape of lower premolars, especially first premolars.

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

P2-03 性染色体異常の形態学的変動から推定した上顎大白歯の歯冠形成について○中山 光子¹, 松野 昌展², 宇都宮 忠彦¹, 久山 佳代¹¹日大 松戸歯 病理, ²日大 松戸歯 解剖

性染色体に異常を持つ集団には特徴のある歯冠形態が観察される。これは性染色体の数的及び構造異常によって引き起こされているとされてきたが、歯冠サイズのばらつきと歯冠形態の関連性は今だ不明な点が多い。本研究では、性染色体の数的異常を持つ集団の歯冠計測値及び歯冠形態を分析し、群間変異のパターンから発生過程での上顎大白歯形態における性染色体の役割を構造方程式モデリング (SEM) により推定した。資料は、オウル大学所蔵 (フィンランド共和国) のKVANTTIコレクションよりターナー症候群、クラインフェルター症候群、XYY症候群、X過剰女性、正常の核型を持つ男女の歯列石膏模型である。上顎第一、第二大臼歯の歯冠計測値 (近遠心径・頬舌径) 及び歯冠形態 (カラベリ結節・遠心舌側咬頭) の出現状況を調査した。歯冠形態の評価にはDahlbergの基準模型 (Dahlberg 1951, 1956) 用いて2段階に分類した。歯冠計測値の結果では、頬舌径よりも近遠心径に群間変動が多く観察された。歯冠サイズが縮小傾向にあるターナー症候群では、カラベリ結節と遠心舌側咬頭の欠如率が他群よりも高い傾向がみられた。一方、歯冠サイズが増加傾向を示す過剰なXやY染色体をもつ集団では、カラベリ結節の出現率に変動は認められなかった。また上顎第二大臼歯の遠心舌側咬頭欠如率がXYY症候群で低い傾向にあることが分かった。SEMの結果、観測された歯冠計測値の変動は、歯冠形態よりも擬似常染色体領域 (PAR 1. 2) と男性特異的領域 (MSY) の数に大きく影響を受けることが分かった。特に歯冠サイズとPAR1とMSYの数に有意な正の相関関係が認められた。カラベリ結節や遠心舌側咬頭の出現には大白歯の位置 (M1又はM2) に依存していた。本研究から、性染色体異常集団とコントロール群間の上顎大白歯における表現型の変動は、擬似常染色体領域 (PAR) と男性特異的領域 (MSY) の数によって説明され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。**P2-03 Dental crown formation of maxillary molars deduced from morphological variation in sex chromosome aneuploidies**○Nakayama M¹, Matsuno M², Utsunomiya T¹, Kuyama K¹¹Dept Oral Pathol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo; ²Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent Matsudo

The aim of this study is to observe the relationships between crown sizes and tooth crown morphological traits in the various type of sex chromosome disorders and normal controls. And then estimate the functions of sex chromosome in tooth crown development. Tooth crown diameters and classification of the traits in maxillary permanent molars (M1 and M2) were from the dental casts belonging to the KVANTTI collection in Finland. The expression of Carabelli's cusp and the distolingual cusp were divided into two grades with reference to Dahlberg's plaques. The crown size changes in individuals with sex chromosome aberration occurred more in the MD diameter of M1. The smaller crowns in Turner females seemed to have lower frequency of positive expression of Carabelli's cusp and the higher frequency of reduced distolingual cusp in M1. The expressivity of Carabelli's cusp was almost equivalent among individuals with extra X and Y chromosomes, although the distolingual cusp frequently appeared in M2 in 47,XYY karyotype in comparison to that of normal males. The results suggested that the phenotypic variation among controls and individuals with sex chromosome aberration may be explained by the number of the pseudoautosomal regions and male specific region of Y chromosome.

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

P2-04 多血小板フィブリン適応中の組織再生プロセス

○劉 宇豪, 東 雅啓, 松尾 雅斗

神歯大 院歯 口腔科学

P2-04 Tissue regeneration process during platelet-rich fibrin adaptation

○Liu YH, To M, Matsuo M

Dept Oral Sci, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ

Purpose: Platelet-rich materials used in autologous regenerative medicine include platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF). Since these regenerated materials contain many growth factors, they are widely used in the field of orthopedic and plastic surgery for the purpose of promoting wound healing. We have reported on microcirculation in periodontal tissue, especially alveolar bone regeneration. In this study, we examined the regeneration process of soft tissue by PRF morphologically.

Materials and Method: This study was approved by the Institutional Animal Ethics Committee of Kanagawa Dental University (Permit Number 2019-007). Under general anesthesia, bilateral upper and lower premolars were extracted from three beagle dogs, and blood was collected from a vein immediately before surgery to create PRF. In the experimental group, one side of the extraction socket was filled with PRF, and other side in the control group. Specimens were prepared on days 1, 3, and 7 after the operation, and HE staining and immunostaining of CD34 and VEGF were performed in the maxillary sockets, the mandibular bone were observed by Scan Electron Microscope (SEM).

Results & Conclusion: In the experimental group one day after the operation, newly formed blood vessels were observed around the epithelial process in the gingiva. Three days later, a capillary network was observed in both groups, but denser and larger blood vessels were observed in the experimental group. Even after 7 days, the capillaries were dense and thick blood vessels were observed in the experimental group, and the thin capillaries were formed in the control group. In the SEM observation, the density of capillary were obviously higher than control groups after 3 days. These results suggested that the use of PRF derived from autologous blood promotes angiogenesis in gingival tissues.

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

P2-05 マウス骨格筋由来筋芽細胞 (C2C12) とマウス胎子由来線維芽細胞 (NIH3T3) を用いた三次元腱分化誘導モデル作成の検討

○内藤 哲^{1,4}, 廣内 英智¹, 山本 将仁^{1,4}, 松永 智^{1,4}, 四ツ谷 護^{2,4}, 佐藤 正樹^{3,4}, 阿部 伸一^{1,4}

¹東歯大 解剖, ²東歯大 クラウン補綴, ³東歯大 生物, ⁴東歯大 研究ブランディング事業

【目的】運動器とは、筋、腱、骨組織が強固に結びつくことによって動力機能を得るものである。発生過程において運動器を構成する各コンポーネントは互いに影響を及ぼし発達することが知られているが、複数組織がいかに一つの機能的な器官を作り上げるかについては明らかにされていない。そこで今回は、発生過程における筋と腱のインターアクションを検索するための第一歩として、筋芽細胞とコラーゲンを含有する三次元組織分化誘導モデルの作成を検討した。

【方法】マウス骨格筋由来筋芽細胞 (C2C12) 上にマウス胎子由来線維芽細胞 (NIH3T3) を混和したコラーゲンを積層し、三次元的に共培養を行うことで筋への分化誘導を試みた。また、培地中に筋芽細胞の増殖を抑制し腱細胞への分化を促進する GDF-8 を添加した。通法に従い凍結切片を作製し、形態学的な観察のために HE 染色を、筋の分化誘導後の細胞特異的マーカーの局在や発現を調べるため、各種抗体を用いて免疫組織学的染色と RT-PCR を行った。

【結果と考察】線維芽細胞含有のコラーゲンを積層させた筋芽細胞は、積層しないで培養した筋芽細胞より重層化し、筋組織への分化誘導を示す筋管様構造を確認することができた。また、GDF-8 を添加したサンプルは他条件のものより筋への分化が抑制される一方で、腱への分化が促進される傾向が観察された。さらに、GDF-8 は線維芽細胞と共培養することにより、筋芽細胞の腱への分化を促進する可能性が考えられた。以上の結果より、筋芽細胞とコラーゲンを含有する三次元培養は筋と腱のインターアクションを検索するための *in vitro* モデルとして有用であ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。

P2-05 Three-dimensional tissue culture model using mouse-derived myoblasts and fibroblasts

○Naitou T^{1,4}, Hirouchi H¹, Yamamoto M^{1,4}, Matsunaga S^{1,4}, Yotsuya M^{2,4}, Sato M^{3,4}, Abe S^{1,4}

¹Dept Anat, Tokyo Dent Coll; ²Dept Fixed Prosthodont, Tokyo Dent Coll; ³Lab Biol, Tokyo Dent Coll; ⁴Res Branding Project, Tokyo Dent Coll

The musculoskeletal system functions by strong connection between muscles, tendons, and bones. Each component of the musculoskeletal system influences each other during the prenatal period, but it is unclear how the components make up one functional organ. To clarify the interaction between muscle and tendon during development of the musculoskeletal system, we generated a three-dimensional tissue culture model, using myoblasts and collagen gel which contains mouse fetal-derived fibroblasts. Collagen gel containing NIH3T3 cells (mouse fibroblast cell line) were gently overlaid onto C2C12 cells (mouse myoblast cell line). We subsequently added the growth factor GDF-8, which restricts muscle proliferation and promotes myoblasts differentiation into tendon cells, to the medium. Frozen sections were prepared and H-E staining and immunohistochemical staining was performed. RT-PCR was also performed. The myoblasts which laminated with fibroblasts were more stratified than those cultured without overlaying collagen gel. GDF-8 tend to suppressed the differentiation into muscles and promote the differentiation into tendons. In this study, this data shows the possibility that this three-dimensional tissue culture model was useful as *in vitro* model to examine the interaction between muscle and tendon.

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

P2-07 ヒト顔面部位別皮下組織構造の組織学的観察天野 カオリ¹, 稲葉 啓太郎¹, 日高 恒輝², ○松尾 雅斗¹¹神歯大 院歯 口腔科学, ²神歯大 院歯 口腔統合医療

ヒト顔面部領域の皮下組織構造, 特に脂肪組織の分布は部位によりその量と形態構造が異なり, 個人差も大きい. シワやたるみは通常加齢に伴い増加する, これは, 皮下部脂肪組織が加齢に伴い収縮や線維化により減少することが一要因と考えられるが, シワの構築は顔面部における領域差が著しい. 本研究において皮下組織部の加齢に伴う構造変化について走査型電子顕微鏡 SEM で立体構築を観察することを主目的とする. 加えて, ヒト表情筋表面にはいわゆる体幹の骨格筋表面を包む筋膜は存在せず, 筋膜構造は筋下層に存在する浅層脂肪群と深層脂肪群の間に腱性の膜結合織として存在する. この腱性構造は superficial musculoaponeurotic system SMAS と呼ばれ, 形成外科領域ではリフトアップなど美容外科処置に頻繁に利用されているが, 解剖学領域においては未だ確立がされていない. 前回の報告では 50 歳 -82 歳ヒト顔面部皮下組織構造を, 眉間, 眼角, 眼窩下, 咬筋上部, 耳下腺部, ほうれい線部に分けて SEM により部位別に観察した. 全個体において眼窩下領域皮下組織の脂肪層が他部位と比較して極めて薄く, 脂肪群と脂肪群の間には空隙が認められた. また脂肪の形態に大小差がみられた. 逆に耳下腺部位や咬筋上部の皮下組織層の脂肪組織は形態に明確な差異がみられず, 脂肪群と脂肪群の間の空隙が少なかった. 鼻唇溝部位には皮膚表面にいわゆるシワとして認識できる強い溝が全個体にみられたが, この溝直下の皮下組織層では脂肪層が厚く存在し, なおかつ脂肪群と脂肪群の間に空隙がみられた. 今回ヘマトキシリン・エオシン HE ならびに弾性線維の分布をみるためエラスチカ・ワンギーソン EVG 染色にて顔面部位別の皮下組織構造の観察を行った.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.**P2-07 Morphological study of human facial and subcutaneous tissue structure by histological observation**Amano K¹, Inaba K¹, Hidaka K², ○Matsuo M¹¹Dept Oral Sci, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ; ²Dept Oral Interdiscipl Med, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ

A clear anatomical definition of the facial fascia structure has not yet been established since unlike the deep fascia found on the general skeletal muscle surface, it does not envelope the muscular surface layer. The aim of this study was to clearly identify the basic morphology of this subcutaneous tissue structure including the fascia by observing dissected specimen three dimensionally through the SEM. Moreover, this study explores structural differences of the facial region due to aging; thereby further clarifying the properties of the structure which adds clinical significance and considerations. Our findings indicate that the subcutaneous adipose tissue in the orbital region is much thinner with many spaces between the adipose compared to other areas, as well as differences in the adipose size. Conversely, the adipose tissue in the parotid region and the subcutaneous tissue layer of the region of masseter did not differ in size with less space between the adipose compartments. We also observed more adipose and space between the compartments in the subcutaneous tissue layer just below the nasolabial fold groves compared to other areas.

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

P2-08 細胞底面に着目した癌細胞排除機構の研究

○北河 憲雄^{1,2}

¹福歯大 生体構造, ²福歯大 口腔医学研究セ 病態系PF

【目的】細胞競合は、同種細胞間で高適応度の細胞が低適応度の細胞を排除する仕組みであり、この仕組みの1つにEDAC (epithelial defense against cancer)がある。EDACは上皮細胞による同種の上皮由来の変異細胞(癌細胞)の排除機構であり、その過程で免疫系の細胞を介さないのが特徴である。昨今、正常皮膚内の細胞競合において、細胞底面の構造であるヘミデスモゾーム構成蛋白質の重要性が明らかになった。しかしながら、癌細胞排除への関与は、ほとんど分かっていない。そこでEDACにおける、細胞底面構造の関与について解析を行った。

【方法】解析はtranswellの様な別面共培養ではなく、同一面共培養で行った。ヒト癌細胞HSC-3とヒト正常ケラチノサイト由来のHaCaTを障壁のある状態で別々に播種し、2日間培養後、障壁を外して共培養した。癌・正常細胞の区別は蛍光クロロメチル誘導体にて行った。細胞底面構造のEDACへの関与は培養底面の細胞接着性を変化させることで検討した。観察には蛍光顕微鏡(BZ-X700)もしくは共焦点レーザー顕微鏡(LSM710)を用い、解析は各顕微鏡の解析ソフト及びimage-Jにて行った。

【結果】低接着の培養底面ではHSC-3の排除が確認された。その一方、高接着底面ではHSC-3の排除が起こらず、むしろ共培養時の方が、HSC-3単培養時よりも細胞増殖が促進される傾向が観察された。また、排除された細胞は必ずしも、HSC-3・HaCaT界面の最前線に位置しているHSC-3ではなく、HSC-3・HaCaT界面の後方に位置する場合の方が多かった。

【考察】癌細胞の排除においても細胞底面の環境が重要な因子であ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。

P2-08 An EDAC study focusing on cell-extracellular matrix junctions

○Kitagawa N^{1,2}

¹Dept Morph Struct, Fukuoka Dent Coll; ²Pathol PF, Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll

Cell competition is a survival-based competition among cells of the same tissue, and this process is termed epithelial defense against cancer (EDAC). In this system, normal epithelial cells eliminate cancerous cells without the aid of immune cells. Recently, the importance of the hemidesmosomal protein complex was revealed during cell competition in skin cells. However, little has been reported on EDAC. Here, we analyzed the effects of different cell culture surfaces on EDAC using human cancer cells (HSC-3) and human normal keratinocyte-derived cells (HaCaT). The analysis was carried out by co-culturing the cells on the same surface after seeding them separately. HSC-3 and HaCaT cells were distinguished based on fluorescence using fluorescent chloromethyl derivative dyes. Elimination of HSC-3 cells was confirmed in the low adhesion bottom surface cultures, but not in the highly adherent bottom surface cultures. The co-cultured HSC-3 cells promoted cell proliferation more than the HSC-3 cell monocultures. The excluded HSC-3 cells were not typically located at the cancer-normal cell interface. In most cases, these cells were located behind the cancer-normal cell interface. These findings indicate that the environment of the bottom surface of the culture plate might be an important factor in EDAC.

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

P2-09 ヒト中頸神経節の交感神経節後ニューロンにおける神経伝達物質合成酵素及び神経ペプチドの分布

○佐藤 匡, 矢島 健大, 市川 博之

東北大学 院歯 口腔器官解剖

中頸神経節は交感神経節後ニューロンの集まりである。その上方には、同じく交感神経節後ニューロンで作られる上頸神経節があり、下方には下頸神経節と第一胸神経節が癒合して形成される星状神経節がある。中頸神経節は大きさも個人差があり、その膨らみが認められないものや、星状神経節よりも大きいものもある。この神経節における交感性ニューロンの節後線維は主に頸部を支配し血管の収縮などを行っていると考えられる。しかしながら中頸神経節における神経細胞の分布についてはほとんど調べられておらず、肉眼的にその膨らみが認められない場合に神経細胞が含まれているかどうかについても明らかではない。そこで、ヒト中頸神経節における神経細胞の分布を調べるとともに noradrenalin の合成酵素である dopamine β -hydroxylase (DBH), tyrosine hydroxylase (TH), neuropeptide Y (NPY), vasoactive intestinal polypeptide (VIP) の発現を明らかにし、上頸神経節及び星状神経節と比較した。その結果、5体の標本のうち1体においては中頸神経節の膨らみが肉眼的には観察されなかった。しかしながら他の4体の中頸神経節における神経細胞よりも数は少ないものの、この1体においても交感神経幹から鎖骨下ワナへの分岐近くで神経細胞が豊富に認められた。免疫染色により、ヒト中頸神経節では多くの神経細胞が DBH, TH, NPY を発現していたが、VIP を含む神経細胞は比較的まれであった。これらの物質は上頸神経節及び星状神経節においても中頸神経節と同様の分布を示していた。以上の結果から、ヒト中頸神経節における交感神経節後ニューロンでは、他の頸部の交感神経節と同様に catecholamine や NPY, VIP を神経伝達物質、或いは調節物質として利用していると考えられた。なお本研究は、東北大学の國分壯一氏との共同研究である。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-09 Distribution of neurotransmitter agents in postganglionic neurons of the human middle cervical ganglion

○Sato T, Yajima T, Ichikawa H

Div Oral Craniofac Anat, Tohoku Univ Grad Sch Dent

The middle cervical ganglion (MCG), one of cervical sympathetic ganglia is located between superior cervical (SCG) and stellate ganglia (SG). In the cat, dog and sheep MCG, sympathetic neurons have been shown to contain neurotransmitters and their related substances. However, little is known about distribution of neurotransmitter agents in the human MCG. In this study, immunohistochemistry for neurotransmitter agents was performed on the MCG in human cadavers. In 4 samples of human cadavers, MCG swellings contained numerous postganglionic neurons. In another sample, a distinct swelling of the MCG could not be detected. However, neuronal cell bodies were present within the sympathetic nerve trunk between the superior cervical and stellate ganglia. Majority of postganglionic neurons in the MCG were immunoreactive for dopamine β -hydroxylase (DBH), tyrosine hydroxylase (TH) and neuropeptide Y (NPY). However, expression of vasoactive intestinal polypeptide (VIP)-positive neurons was rare in the MCG. In the SCG and SG, sympathetic neurons also contained these neurotransmitter agents. VIP-immunoreactivity was also expressed by nerve fibers surrounding some postganglionic neurons in the MCG, SCG and SG. Like in the human SCG and SG, catecholamines, NPY and VIP probably act as neurotransmitter substances in the human MCG.

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

P2-11 脚橋被蓋核刺激による嚥下反射の減弱

○佐藤 義英

日歯大 新潟生命歯 生理

【目的】嚥下の中枢性パターン発生器は、弧束核を含む背側群と疑核周辺の延髄網様体に相当する腹側群から構成されている。脚橋被蓋核は腹側群に投射していることが形態学的研究から報告されている。そこで、本研究は脚橋被蓋核刺激により、嚥下反射が変調されるか実験を行った。

【方法】実験にはウレタン麻酔下ラットを用いた。上喉頭神経連続電気刺激（0.2 ms duration, 30 Hz, 10 s）により嚥下反射を誘発し、顎舌骨筋から筋電図を記録した。脚橋被蓋核の連続電気刺激（0.2 ms duration, 30 Hz, 150-200 μ A）により、嚥下回数、嚥下開始時間、筋電図持続時間および筋電図の振幅に影響があるか検索した。次に、脚橋被蓋核にグルタミン酸を微量注入（0.1 μ l, 90 秒）した。注入2分前から注入30分後まで上喉頭神経刺激を行い、嚥下回数、嚥下開始時間、筋電図バーストの持続時間および筋電図の振幅を計測した。実験終了後、脳切片を作製し電気刺激部位とグルタミン酸注入部位を組織学的に確認した。

【結果】脚橋被蓋核の連続電気刺激により、嚥下回数は有意に減少し、嚥下開始時間は有意に長くなり、筋電図バーストの持続時間は有意に短くなった。また、嚥下回数はグルタミン酸注入前と比較し、注入2分後から15分後に有意に減少した。嚥下開始時間は、注入2分後から20分後に有意に長くなった。筋電図バーストの持続時間は、注入5分後から20分後に有意に短くなった。筋電図の振幅は、注入10分後から15分後に有意に減少した。

【考察】脚橋被蓋核刺激は、嚥下の中枢性パターン発生器に影響を与えることが示唆された。会員外共同研究者：辻光順（元日本歯科大学新潟生命歯学部生理学講座）

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-11 Suppression of the swallowing reflex by stimulation of the pedunculopontine tegmental nucleus

○Sato Y

Dept Physiol, Nippon Dent Univ Niigata

The swallowing central pattern generator (CPG) is consist of a dorsal group including the nucleus of the solitary tract and a ventral group corresponding to the reticular formation. Morphological study has reported that pedunculopontine tegmental nucleus (PTg) projects to the latter area. This study examines whether the swallowing reflex is modulated by stimulation of the PTg. These experiments were performed on rats anesthetized by urethane. The swallowing reflex was evoked by electrical stimulation of the superior laryngeal nerve (SLN). Repetitive electrical stimulation applied to the PTg. During recording sessions, the SLN and the PTg were simultaneously stimulated. As a control, the SLN was solely stimulated twice before and after the simultaneous stimulation. Next, the effects of glutamate microinjection into the PTg on the swallowing reflex were tested. The PTg stimulation had suppressive effect on the number of swallowing reflexes. The onset latency of the first swallow was significantly longer than in the pre-control or the post-control. The number of swallows was significantly less from 2 to 15 min after injection. The onset latency of the first swallow was significantly longer from 2 to 20 min after injection. The present study suggests that stimulation of the PTg affects the swallowing CPG.

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

P2-12 ラット嚥下反射に及ぼすオレキシン A とグルカゴン様ペプチド 1 の相互抑制作用

○小橋 基, 美藤 純弘, 吉田 竜介

岡大 院医歯薬 口腔生理

摂食亢進作用を持つオレキシン A が孤束核交連部 (cNTS) を介して, 摂食抑制作用をもつグルカゴン様ペプチド 1 (GLP-1) が孤束核内側核 (mNTS) を介して, 嚥下反射を抑制することを報告した. 今回は, オレキシン A と GLP-1 の嚥下反射に及ぼす相互作用を検討したので報告する. ウレタン-クロラロース麻酔下の SD 系雄性ラットを用いて実験を行った. 反射性嚥下の変調作用を, 上喉頭神経刺激により惹起した嚥下筋電図の頻度と初回嚥下筋電図の潜時を指標として解析した. オレキシン A 第四脳室内滴下投与後に, GLP-1 を mNTS に微量注入しても嚥下反射の抑制は生じなかった. 一方, オレキシン 1 受容体拮抗薬 (SB334867) の cNTS への微量注入後, 単独投与では嚥下に効果をもたない用量の GLP-1 を mNTS に注入した際には嚥下抑制が表出した. これらのことから, オレキシン A は cNTS を介して GLP-1 の嚥下反射抑制作用を妨げることが明らかとなった. オレキシン A の第 4 脳室内投与により嚥下反射の抑制が生じる. GLP-1 を mNTS に微量注入した後にオレキシン A を第四脳室内投与しても嚥下反射の抑制は生じなかった. 一方, GLP-1 受容体拮抗薬 (exendin (5-39)) の第四脳室内滴下投与後に, 単独投与では嚥下に効果をもたない用量のオレキシン A を第四脳室内投与した際には嚥下抑制が表出した. これらのことから, GLP-1 は mNTS を介してオレキシン A の嚥下反射抑制作用を妨げることが明らかとなった. 以上の結果より, GLP-1 受容ニューロンとオレキシン A 受容ニューロンは相互抑制回路を形成し嚥下反射を調節していることが示された. 本研究は JSPS 科研費 JP18K11099 の助成を受けたものです.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P2-12 Reciprocal inhibitory action of orexin-A and glucagon-like peptide-1 on reflex swallowing induced by SLN afferents in rats

○Kobashi M, Mitoh Y, Yoshida R

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

Our previous studies revealed that orexin-A, appetite-enhancing peptide, suppressed reflex swallowing via commissural part of the nucleus tractus solitarius (cNTS) and that glucagon-like peptide-1 (GLP-1), appetite-reducing peptide, also suppressed reflex swallowing via medial nucleus of the NTS (mNTS). In this study, we investigated the mutual interaction between orexin-A and GLP-1 on reflex swallowing. Sprague-Dawley rats under urethane-chloralose anesthesia were used. Swallowing was triggered by the electrical stimulation of the superior laryngeal nerve (SLN) and identified by the EMGs obtained from the mylohyoid muscle. The injection of GLP-1 into the mNTS decreased the swallowing frequency and extended the latency of the first swallowing. These suppressive effects of GLP-1 were not shown after the administration of orexin-A into the fourth ventricle. After the administration of orexin-1 receptor antagonist (SB334867) into the cNTS, ineffective dose of GLP-1 into the mNTS showed suppression of reflex swallowing. Similarly, suppressive effect of orexin-A was not shown after the injection of GLP-1 into the mNTS. After the administration of GLP-1 receptor antagonist (exendin-4(5-39)), ineffective dose of orexin-A showed suppression of reflex swallowing. The presence of reciprocal inhibitory connections between GLP-1 receptive neurons and orexin-A receptive neurons in the NTS is strongly indicated.

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

P2-13 3xTg-AD マウスを用いた神経細胞におけるアミロイド β の局在と加齢変化について

○園田 怜美^{1,2}, 倉本 恵梨子², 後藤 哲哉²

¹鹿大院医歯 歯周病, ²鹿大院医歯 機能形態

【目的】アルツハイマー病 (AD) の発症において加齢は最大のリスクファクターであるが, AD における神経細胞の加齢とアミロイド β ($A\beta$) の発現との相関は未だ明確ではない. 本研究では, 三叉神経中脳路核 (Vmes) 神経細胞は細胞サイズが大きく, 他の神経細胞より強く $A\beta$ が発現するという組織学的特徴に着目し, 3xTg-AD マウスの Vmes 神経細胞内 $A\beta$ の局在を経時的に調べることで AD と関連した神経細胞内の加齢変化を明らかにすることを目的とした.

【方法および結果】本研究は鹿児島大学動物実験委員会の承認を得て実施した. 最初に, 抗 $A\beta$ 抗体 (6E10) を用いて $A\beta$ の局在を調べたところ, Vmes 神経細胞内では $A\beta$ が形質膜ではなく細胞内の空胞状構造の膜に主に発現していた. この膜について探索するためエンドソームのマーカーである Rab5, Rab9, 小胞体のマーカーである Heme oxygenase (HO) に対する抗体を使って $A\beta$ との共局在を調べたところ, Rab5, Rab9 では共局在を認めなかったのに対し, HO においては $A\beta$ との共局在が認められた. このことより, Vmes 神経細胞内の $A\beta$ は小胞体膜由来の HO 陽性のオートファゴソーム膜に局在することが明らかとなった. 続いて加齢変化における神経細胞内 $A\beta$ の加齢変化について調べたところ, Vmes 神経細胞において 2 ヶ月齢 3xTg-AD マウスでは 30% ほどの Vmes 神経が $A\beta$ 陽性であったのに対し, 4 ヶ月齢では 70% 以上の Vmes 神経細胞が $A\beta$ 陽性となり増加を認めた. $A\beta$ 陽性のオートファゴソーム様空胞は加齢と共に数とサイズが増加することが分かった.

【結論】これらの結果より, Vmes 神経細胞の $A\beta$ は形質膜ではなくオートファゴソーム様空胞に局在し, 加齢と共に $A\beta$ 陽性オートファゴソーム様空胞が数・サイズともに増加することが明らかとなった.

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する.

P2-13 Localization of amyloid β and age-related changes in neurons using 3xTg-AD mice

○Sonoda R^{1,2}, Kuramoto E², Goto T²

¹Dept Periodontol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci; ²Dept Oral Anat Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

Aging is the largest risk factor in the development of Alzheimer's disease (AD), however, the correlation between aging of neurons and expression of amyloid β ($A\beta$) in AD is still unclear. In this study, we focused on the trigeminal mesencephalic nucleus (Vmes) neurons which have bigger cell size and strong deposition of $A\beta$. This study aimed to clarify the age-related intracellular distribution of $A\beta$ in Vmes neurons of 3xTg-AD mice. This experiment was approved by the Animal Experiment Committee of Kagoshima University. $A\beta$ distribution was examined using anti- $A\beta$ antibody (6E10), and found $A\beta$ distributed in the intracellular vacuolar membrane, but not in the plasma membrane, in Vmes neurons. $A\beta$ -immunoreactive (IR) membrane was found to be autophagosome membrane that were immunopositive for heme oxygenase. Next, we examined the age-related changes in $A\beta$ in Vmes neurons. In 2-month-old 3xTg-AD mice, about 30% of Vmes neurons were $A\beta$ -positive, whereas in 4-months-old mice, 70% or more of Vmes neurons were $A\beta$ positive. $A\beta$ -positive autophagosome-like vacuoles were found to increase in number and size with age. In conclusion, $A\beta$ in Vmes neurons is localized in autophagosome-like vacuoles rather than plasma membrane, and that $A\beta$ -positive autophagosome-like vacuoles increase in number and size with age.

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

P2-14 発生工学的トレーシングを基盤とした橋結合腕傍核の苦味経路ニューロンの機能同定

○杉田 誠

広大院医歯薬保 口腔生理

苦味情報は T2Rs を共発現する味覚受容細胞で感知され、延髄孤束核・橋結合腕傍核・視床後内側腹側核の特定ニューロンを経由し、大脳皮質味覚野や扁桃体の特定ニューロンに伝達され、認識されるとともに忌避性行動や不快情動を惹起する。本研究では、T2Rs を発現する苦味受容細胞に経ニューロン性トレーサー (WGA-DsRed) を発現するマウスを用い、味細胞から移行した WGA-DsRed を受け取る苦味経路ニューロンを橋結合腕傍核において可視化し、可視化された苦味経路ニューロンに限定して、ホールセルパッチクランプ解析や免疫組織化学的解析を行い、機能同定を行った。橋結合腕傍核において、WGA-DsRed を受け取る苦味経路ニューロンは後方 medial 側と前方 external lateral 側に局在した。ホールセルパッチクランプ解析において、後方 medial 側と前方 external lateral 側に局在する苦味経路ニューロンはノルアドレナリンや alpha-MSH 等のニューロモデュレーターに対して異なる反応性を示した。また橋結合腕傍核の苦味経路ニューロンが苦味情報以外に他の味覚情報や内臓感覚情報も受け取り活性化されるかを、各種刺激後の最初期遺伝子 c-fos の発現誘導を免疫組織化学的に検出することにより解析した。後方 medial 側の苦味経路ニューロンは苦味情報を選択的に受け取り活性化されるのに比較し、前方 external lateral 側の苦味経路ニューロンは苦味情報とともに内臓感覚不快情報も受け取り、それらの情報を統合することが示唆された。後方 medial 側と前方 external lateral 側に局在する苦味経路ニューロンではニューロン種や情報処理様式が異なることが示唆された。

【共同研究者】山本州代 (広大・院医歯薬保・口腔生理)

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-14 Genetic tracing-based characterization of bitter-taste relaying neurons in the parabrachial nuclei

○Sugita M

Dept Physiol Oral Physiol, Grad Sch Biomed Health Sci, Hiroshima Univ

Bitter taste information is received by taste receptor cells that coexpress multiple T2Rs, and transmitted to the gustatory cortex and the amygdala via synapses in the solitary tract nuclei and the parabrachial nuclei (PBN) to elicit aversive and displeasing responses. We combined genetic tracing with electrophysiological recordings and immunohistochemistry to functionally characterize bitter taste-relaying neurons in the PBN, which were fluorescently labeled by the transneuronal tracer tWGA-DsRed originating from T2R-expressing cells. In the PBN, the tWGA-DsRed-labeled neurons were located rostrally in the external lateral PBN, and caudally in the medial PBN. The tracer-labeled neurons in the medial and the external lateral PBN exhibited the different responsiveness to neuromodulators such as noradrenaline and alpha-MSH. Then we analyzed the induction of the immediate early gene c-fos to detect the neurons activated by different taste and viscerosensory stimuli. The data suggest that the tracer-labeled neurons in the medial PBN may be selectively activated by bitter taste. In contrast, the tracer-labeled neurons in the external lateral PBN may receive the convergent inputs of bitter taste and viscerosensory aversive information. Our data indicate the differences in the neuron types and information processing between the neurons in the medial and external lateral PBN.

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

P2-15 マウス島皮質シナプス長期増強におけるニコチンおよびドーパミン受容体の役割

○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。マウス島皮質第V層錐体細胞では、ニコチン受容体の活性化によりシナプス長期増強が抑制されることが知られている。本研究では、この現象において、ドーパミン受容体が関与するかどうかを明らかにすることを目的とした。

【方法】生後21～35日齢のC57BL/6マウスを使用し、島皮質を含む冠状断脳幹スライス標本を作製した。島皮質第V層錐体細胞からホールセルパッチクランプ記録を行い、刺激用金属電極の通電によって生じる興奮性シナプス後電流、自発性興奮性および抑制性シナプス後電流を記録した。シナプス長期増強は、錐体細胞を脱分極(+30 mV)させながら、2 Hzの刺激を80発与えて誘導した。

【結果】ニコチンとともにドーパミンD1受容体拮抗薬(SCH23390)を灌流投与すると、ニコチン受容体の活性化により生じるシナプス長期増強抑制効果が有意に抑制された。一方、ニコチンとともにドーパミンD2受容体拮抗薬(sulpiride)を灌流投与した際は、ニコチン受容体の活性化により生じるシナプス長期増強抑制効果に変化は認められなかった。また、SCH23390存在下においては、ニコチン受容体の活性化による自発性抑制性シナプス後電流の増大が抑制されたが、sulpiride存在下では抑制されなかった。ニコチン受容体の活性化による自発性興奮性シナプス後電流の増大は、SCH23390またはsulpirideにより抑制されなかった。

【結論】島皮質第V層錐体細胞において観察されるニコチン受容体の活性化によるシナプス長期増強抑制効果は、ニコチン受容体とドーパミンD1受容体の相互作用により生じることが明らかになった。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-15 Roles of nicotinic acetylcholine receptors and dopamine receptors in synaptic plasticity of the mouse insular cortex

○Toyoda H, Sato H, Kato T

Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

The insular cortex plays essential roles in nicotine addiction, but much is still unknown about its synaptic mechanisms responsible for nicotine addiction. In layer V pyramidal neurons of the mouse insular cortex, activation of nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) suppresses synaptic potentiation through enhancing GABAergic synaptic transmission. In this study, we examined whether dopamine receptors might contribute to the nicotine-induced inhibition of synaptic potentiation. The nicotine-induced inhibition of synaptic potentiation was decreased in the presence of D1 dopamine receptor antagonist SCH23390 irrespective of the presence of D2 dopamine receptor antagonist sulpiride, suggesting that D1 dopamine receptors are involved in the nicotine-induced inhibition. The nAChR-induced enhancement of GABAergic synaptic transmission was decreased in the presence of SCH23390 irrespective of the presence of sulpiride, whereas that of glutamatergic synaptic transmission was not altered in the presence of SCH23390 and sulpiride. These results suggest that D1 dopamine receptors are involved in the nAChR-induced enhancement of GABAergic synaptic transmission while dopamine receptors are not involved in that of glutamatergic synaptic transmission. These observations indicate that the interaction between nAChRs and D1 dopamine receptors play critical roles in synaptic activities in layer V pyramidal neurons of the mouse insular cortex.

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

P2-16 運動野から感覚野への皮質内軸索投射を形態学的に解析する

○古田 貴寛, 吉田 篤

阪大 院歯 口腔解剖 2

大脳皮質における領野間結合関係について、感覚皮質から運動野へ多くの軸索投射が存在していることはよく知られている。一方、その反対方向に、運動野から感覚野への投射があることはこれまであまり注目されず、形態学的な所見は不足している。運動野から感覚野への投射回路を知ることは、運動と感覚を統合する脳内メカニズムを考察する上で非常に大切であると考えられる。本研究では、神経形態可視化技術を利用して、運動野から感覚野へ情報を送る神経回路の解剖学的構築を明らかにすることを目指す。感覚野に逆行性トレーサーを注入する実験の結果では、様々な皮質領域から感覚野への皮質内投射があることが示された。その中でも特に運動野からの軸索投射が多いことが示されたので、まず、順行性トレーサーを用いて集団としての軸索分布パターンを調べた。ラット感覚皮質に存在する特徴的な構造である、barrel/septa 構造に関しては軸索分布に一定の偏りがあった。大脳皮質の層構造ごとの入力様式に関して、第1層は非常に薄い構造であるにも関わらず、運動野から多くの軸索入力を受けることがわかった。皮質第1層には神経細胞の細胞体がほとんど分布しないが、三次元電子顕微鏡解析により、標識された軸索終末が樹状突起にシナプス結合を形成していることが確認された。これは第5層の錐体細胞が apical tuft にて感覚野からの入力を受け取ること示唆する。さらに単一細胞標識による軸索解析では、個々のニューロンの軸索分布パターンを定量的に解析した。その分布は barrel 構造のサイズを超え広い範囲にクラスターを展開していることがわかった。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-16 Morphological analysis of cortico-cortical projection from motor cortex to somatosensory cortex

○Furuta T, Yoshida A

Dept Oral Anat Neurobiol, Osaka Univ Grad Sch

Cortico-cortical connection from motor cortex to somatosensory cortex has come to draw only a little attention and thus we have a little knowledge of anatomy of the circuit. Given that motor information is conveyed to the somatosensory cortex by this cortico-cortical projection, the circuit is supposed to act for sensory-motor integration. Here, we investigated structures of the cortico-cortical circuit projecting from the motor cortex to the sensory cortex by using morphological techniques. Retrograde tracer injection into the sensory cortex showed that axonal projections were provided dominantly from the motor cortex of various cortical areas which sent axons to the sensory cortex. When an anterograde tracer was injected into the motor cortex, the distributions of long projecting axons exhibited a bias with respect to the somatotopic organization in the sensory cortex for the vibrissal array, barrels and septa. As for the layer distributions of input from the motor cortex, many labeled axons were found in layer 1 where very few neural cell bodies are distributed. Three-dimensional electron microscopic analysis showed that axons from the motor cortex established synaptic contacts with dendritic structures in layer 1, suggesting that pyramidal neurons in layers 2/3 and 5 receive this input via apical tufts.

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

P2-17 ビスフェノール A の出生前曝露は捕食者臭ストレスへの慣れを誘発する

○Fujimoto Tetsuya

大歯大 歯生理

ビスフェノール A (BPA) はポリカーボネートやエポキシ樹脂などのプラスチックの合成に広く使用されており、いくつかの歯科材料もその用途として知られています。BPA は主要な内分泌かく乱物質であり、中枢神経系への影響も盛んに研究されている。また、小児向け薬剤開発の観点から幼若動物を用いた実験系も近年着目されている。本研究では、出生前 BPA 曝露後に出生した幼若ラットを用いストレス関連行動と内分泌反応を評価しました。低用量群 (BPA-L; 0.015 mg / kg / 日) と高用量群 (BPA-H; 1.5 mg / kg / 日) および対象群の 3 つのグループを比較しました。水平運動、レアリング (立ち上がり行動)、グルーミング (毛づくろい行動)、フリージング (すくみ行動) は、キツネ (捕食者) のニオイの有無で評価されました。対照群では、キツネのニオイがグルーミングを増加させずにフリージングを増加させました。逆に BPA-H 群では、フリージングは変化しませんでした。BPA-L 群では、グルーミングが増加しました。BPA-L 群では、グルーミングとフリージング両者がキツネのニオイにより増加しました。血中コルチコステロンレベルは、3 グループすべてにおいてキツネのニオイのセッションで増加し、3 群の間で差は認められませんでした。BPA-H 群では、捕食者臭ストレスに対する内分泌反応の活性化にもかかわらずフリージングは増加せず、防御行動の欠如が示唆されました。今回の結果は高用量の BPA が捕食者のニオイによって誘発されたストレスに慣れを引き起こし、幼若ラットの正常なストレス反応を変える可能性を示唆しています。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-17 Prenatal exposure to bisphenol A induces habituation to predator-odor stress in young rats

○Fujimoto T

Dept Physiol, Osaka Dent Univ

Bisphenol A (BPA) is a major environmental endocrine disruptor that is widely used for the synthesis of the plastics and some of the dental materials. This study evaluates the impact of prenatal BPA exposure on stress-related behaviors and endocrine response in the pre-weaning age of offspring. A low-dose (BPA-L; 0.015 mg/kg/day) and a high-dose (BPA-H; 1.5 mg/kg/day) groups were compared. Spontaneous behaviors (rearing, ambulation, grooming, and freezing) were assessed in the presence or absence of fox predator odor. In the control group, fox odor increased freezing, but not grooming behaviors. Conversely, in the BPA-H group, freezing was unchanged, but grooming behavior increased. Blood corticosterone levels were increased in the fox odor session in all three groups. In the BPA-H group, despite the activation of the endocrine response, freezing behavior did not increase, suggesting the absence of defensive behaviors. The present findings suggest that high-dose BPA might cause habituation to stress induced by the predator odor and alter the normal stress response in young offspring rats.

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

P2-18 骨基質タンパク質オステオカルシンが PC12 細胞に及ぼす影響

○安藤 瑛香^{1,2}, 東 泉², 溝上 颯子³, 渡邊 誠之¹, 平田 雅人⁴, 竹内 弘²

¹九歯大 侵襲制御, ²九歯大 口腔応用薬理, ³九大 院歯 OBT研究セ, ⁴福歯大 口腔医学研究セ

【目的】 骨基質タンパク質の一つであるオステオカルシン (OC) は臍臓や脂肪細胞に作用し, 全身の糖・エネルギー代謝の調節に関わることが明らかになっている。一方で, 学習と記憶の発達をサポートし, マウスの不安様行動を防ぐことも最近報告された。OC が全身のエネルギー消費とグルコース恒常性に影響するメカニズムは比較的よく研究されているが, ニューロンに対する OC の直接的な作用はまだ明らかにされていない。今回我々は, OC がラット褐色細胞腫細胞株 PC12 の神経突起伸長, 細胞増殖および生存, ならびに細胞内シグナル伝達に及ぼす影響について検討した。

【方法】 生細胞数は WST-8 法に準じる方法で測定した。細胞より調製した総 RNA を逆転写し, PCR 法 (RT-PCR) によって mRNA 発現を確認した。神経細胞様突起の長さは ImageJ による画像解析により計測した。細胞内シグナルの解析にはリン酸化特異的抗体を用いたウエスタンブロット法により解析した。

【結果】 5-50 ng/mL の OC 存在下で 4 日間培養した PC12 細胞の数は, OC の非存在下で培養した細胞と比較して増加した。また OC は, 神経成長因子 (NGF) 依存的な神経突起伸長について, 神経突起の数ではなく, 長さを増強した。NGF によって誘導される Akt と ERK のリン酸化は, ともに OC による細胞の前処理による修飾を受けていた。OC 受容体の候補遺伝子について発現解析したところ, PC12 細胞では Gprc6a の mRNA 発現は低かったが, Gpr158 の高い mRNA 発現を認めた。

【結論】 これらの結果は, OC が Gpr158 への直接的な結合を介して, NGF 等により誘導される細胞内シグナル伝達を修飾することによって, 細胞の成長や分化, 生存に直接影響を与える可能性があることを示唆している。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-18 Effect of bone matrix protein osteocalcin on PC12 cells

○Ando E^{1,2}, Higashi S², Mizokami A³, Watanabe S¹, Hirata M⁴, Takeuchi H²

¹Div Dent Anesthesiol, Kyushu Dent Univ; ²Div Appl Pharmacol, Kyushu Dent Univ; ³OBT Res Center, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ⁴Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll

Bone matrix protein osteocalcin (OC) was recently reported to support the development of learning and memory and also prevent anxiety-like behaviors in mice. Although the mechanism through which OC affects systemic energy expenditure and glucose homeostasis has been relatively well studied, the direct actions of OC on neurons in detail are still uncovered. Therefore, we here investigated the effect of OC on neurons using rat pheochromocytoma cell line PC12, with special reference to the neurite outgrowth, cell proliferation and survival, as well as intracellular signaling. The number of PC12 cells cultured for four days in the presence of 5 to 50 ng/mL of OC was increased compared to the cells cultured in the absence of OC. The length, but not the number of NGF-induced neurite outgrowth was enhanced by OC. NGF-induced phosphorylation of Akt and ERK was both affected by pretreatment of the cells with OC. RT-PCR analysis for candidates of OC receptor revealed that mRNA expression of Gpr158, but not Gprc6a, was detected in PC12 cells. These results suggested that OC may exerts direct effect on cell growth and differentiation by binding to Gpr158 and modulation of downstream intracellular signaling.

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

P2-19 神経障害性疼痛に対するアデノシン A₃ レセプターアゴニストの作用機序

○寺山 隆司, 内部 健太

広大院医系科学 顎顔面解剖

神経障害性疼痛の各種動物実験モデルを用いた研究でアデノシン A₃ レセプター (A₃AR) アゴニストの鎮痛効果が認められている。本研究は A₃AR アゴニストの鎮痛効果の発現機構をさらに検討するために行われた。脛骨神経損傷モデルを用いて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収斂投射ならびに触および熱刺激に対する侵害防御行動における A₃AR アゴニスト (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 日で触および熱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 日でアロディニアおよび熱刺激に対する痛覚過敏の状態となった。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 日で行動学的に判定されるアロディニアや痛覚過敏が抑制された。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。本研究の結果は A₃AR アゴニスト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】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-19 Possible mechanisms for the effects of A₃ adenosine receptor agonist on neuropathic pain

○Terayama R, Uchibe K

Dept Maxillofac Anat Neurosci, Grad Sch Biomed Health Sci, Hiroshima Univ

Previous studies indicate that the adenosine A₃ receptor (A₃AR) agonists have antinociceptive activities in several experimental neuropathic pain models. The present study was designed to further examine the mechanisms underlying these antinociceptive actions of the A₃AR agonist. The effects of the A₃AR agonist (i.e., IB-MECA) on microglial activation, enhancement of convergent nociceptive inputs in the spinal dorsal horn, and nocifensive behaviors were examined using the tibial nerve injury model. Injury to the tibial nerve initially caused hyposensitivity to tactile and thermal stimuli 3 days post-injury, and then resulted in tactile allodynia and thermal hyperalgesia 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 associated with this manuscript.

P2-20 抗酸化剤のボルテゾミブ誘発性神経障害保護効果

○飯島 洋介¹, 天野 滋², 坂東 健二郎³, 佐野 元彦⁴, 仲山 奈見¹, 山田 美喜¹, 日野 峻輔¹, 金子 貴広¹, 堀江 憲夫¹, 坂上 宏⁵

¹埼玉医大 総医セ 歯科口腔外科, ²明海大 歯 微生物, ³明海大 歯 生化, ⁴星薬大 薬学教育研究セ 実務教育研, ⁵明海大 歯科医学総合研

【目的】 がん化学療法における副作用に末梢神経障害がある。末梢神経障害はしばしば重篤化して用量制限毒性となることもある重大な副作用である。今回われわれは、臨床で使用している抗がん剤の神経傷害性を評価し、神経保護物質の探索を行った。

【方法】 ヒト口腔扁平上皮癌細胞 (OSCC) (Ca9-22, HSC-2, HSC-3, HSC-4), ヒト間葉系口腔正常細胞 (HGF, HPLF, HPC) 及びヒト神経芽細胞腫 (SHSY5Y) は, 10% 非働化 FBS/DMEM 培地で培養した。ラット副腎髄質由来細胞 (PC12) は, 神経成長因子 (NGF) (50 ng/ml) 含有無血清 DMEM 培地で, 途中で 2 回分化誘導培地を重層させることにより神経突起を発現した神経様細胞に分化誘導させた。これらの細胞を各 96 穴マイクロウェルプレートに 2 x 10³ 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。神経保護効果は, 分化した PC12 細胞に種々の濃度のボルテゾミブ (Bmib) (プロテアソーム阻害薬) と試験物質を含有する培地に交換, 相対的生細胞数を MTT 法により評価した。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】 神経細胞は抗がん剤に対して感受性が高いことが判明した。特にビンカアルカロイド, タキサン系, Bmib では, 顕著であった。Bmib は分化した神経細胞にアポトーシス (subG1 の細胞の蓄積) を誘導したが, 抗酸化剤の sodium L-ascorbate (VC) と N-acetyl-L-cysteine (NAC) の添加によりほぼ完全に抑制された。分子標的治療薬は, 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が, プロテアソーム阻害薬は, 酸化ストレスにより強い神経傷害性を誘導することが示唆された。現在, 詳細な解析を検討中である。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-20 Protection of bortezomib-induced neurotoxicity by antioxidants

○Iijima Y¹, Amano S², Bandow K³, Sano M⁴, Nakayama N¹, Yamada M¹, Hino S¹, Kaneko T¹, Horie N¹, Sakagami H⁵

¹Dept Oral Maxillofac Surg, SMC, Saitama Med Univ; ²Div Microbio Immunol, Meikai Univ Sch Dent; ³Dept Oral Biol Tissue Eng, Meikai Univ Sch Dent; ⁴Divi Appl Pharm Educ Res, Pharm Educ Res Center, Hoshi Univ; ⁵Meikai Univ Res Inst Odontol (M-RIO)

Purpose: Although chemotherapy agents frequently cause severe peripheral neuropathy, very few studies have reported the effective strategy to prevent this side effect. Therefore, we investigated whether these drugs show higher neuropathy than other 15 anticancer drugs, and whether two popular antioxidants show protective effects.

Methods: Human OSCC, normal mesenchymal cells and nerve like cell SHSY5Y were cultured in DMEM supplemented with 10% heat-inactivated FBS. Rat PC12 cells were induced to differentiate into neuronal cells by repeated overlay of serum-free medium supplemented with nerve growth factor. Cells were treated for 48 h with samples, and viable cell number was determined by MTT method. Cells were sorted for apoptotic cells (distributed into subG1 phase) and cells at different stages of cell cycle (G1, S and G2/M).

Results and Discussion: All 19 anticancer drugs showed higher cytotoxicity against PC12 compared to oral normal cells. Among them, bortezomib showed the highest cytotoxicity against both undifferentiated and differentiated PC12 cell and, committed them to undergo apoptosis. Sodium ascorbate and N-acetyl-L-cysteine, but not vitamin B12, completely reversed the cytotoxicity of bortezomib. The present study suggests that bortezomib may induce potent neurotoxicity by its oxidative stress. Detailed analysis of the neuroprotective effect is currently under consideration.

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

P2-21 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甘味応答増強効果

○岩田 周介^{1,2}, 井上 真由子³, 吉田 竜介⁴, 重村 憲徳¹, 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

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 (AS) 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存在す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 AS で生じ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. 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ことから (Fernandez de Arcaya I et al., 2005), 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 AS 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糖類に限定した甘味応答の増強を生じた可能性が示唆された. そこで, ADM 投与によるマウス味蕾におけるグルコース取り込み量の変化を調べるため, 舌前部剥離標本を用いた蛍光グルコースの味細胞への取り込み実験を行なった.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P2-21 Enhancement of sweet taste responses by Adrenomedullin may be mediated by T1Rs-independent sweet taste pathway in mice

○Iwata S^{1,2}, Inoue M³, Yoshida R⁴, Shigemura N¹, Ninomiya Y^{2,5}

¹Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Div Sens Physiol Med Appl Sensing, R&D Center for Five-Sense Devices, Kyushu Univ; ³OBT Res Center, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ⁴Dept Oral Physiol, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ⁵Monell Chem Senses Center, USA

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. 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. 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. Therefore, 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. Moreover, we looked at potential effect of ADM on uptake of 2-NBDG which is able to enter the cell through SGLT1 into taste cells.

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

P2-22 ラット感覚神経節における TRPM3 の分布

○矢島 健大, 佐藤 匡, 島崎 健一郎, 市川 博之

東北大 院歯 口腔器官解剖

Transient receptor potential melastatin-3 (TRPM3) はカルシウム透過型イオンチャネルの一つであり, 腭臓でのインスリン分泌や角膜での浸透圧需要に関与している. 脊髄神経節においては小型の感覚ニューロンに含まれることが知られ, 温度感覚の受容に関与すると考えられている. しかしながら, 口腔顔面領域については詳細には知られていない. 本研究では, ラット三叉神経節(trigeminal ganglion: TG) と舌咽・迷走神経節 (petrosal ganglion: PG, jugular ganglion: JG, nodose ganglion: NG) における TRPM3 の分布について, 免疫組織学的手法により解析を行った. TG, PG, JG の約半数と NG の多くのニューロンが TRPM3 陽性で, それらは小型から中型であった. TRP vanilloid 1 (TRPV1) と calcitonin gene-related peptide (CGRP) との共存についても検討したところ, 多くの TRPM3 陽性ニューロンは TRPV1 も含んでいた. TG, PG, JG では CGRP との共存はわずかであった. 逆行性トレーサーを用いて支配領域を調べたところ, 顔面皮膚と切歯乳頭に分布する TG ニューロンでは約半数が TRPM3 を含んでおり, これらの多くは TRPV1 または CGRP と共存していた. 一方, 歯髄に分布する TG ニューロンではこれらはわずかであった. 外耳道と有郭乳頭に分布する PG と JG ニューロンの多くは TRPM3 を含んでいた. TRPV1 または CGRP との共存については, 外耳道を支配する PG と JG ニューロンでは多かったが, 有郭乳頭を支配する PG ニューロンでは少なかった. 以上の結果より, 脳神経における感覚神経節における TRPM3 の分布と TRPV1 や CGRP との共存関係は, 支配領域によって異な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.

P2-22 Distribution of TRPM3 in the rat sensory ganglion

○Yajima T, Sato T, Shimazaki K, Ichikawa H

Div Oral Craniofac Anat, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Transient receptor potential melastatin-3 (TRPM3) is a nonselective cation channel and has function as a thermosensitive nociceptor. In this study, immunohistochemistry for TRPM3 was conducted in the rat trigeminal, glossopharyngeal and vagal sensory ganglia. TRPM3 was detected in many sensory neurons in the trigeminal (TG), petrosal (PG), jugular (JG) and nodose ganglia (NG). Their cell size was mostly small to medium. Triple immunofluorescence method demonstrated to know co-existence of TRPM3 with TRP vanilloid 1 (TRPV1) and calcitonin gene-related peptide (CGRP). Many TRPM3-immunoreactive (-IR) neurons contained TRPV1. In the NG, only a few TRPM3-IR neurons co-expressed CGRP. Retrograde tracing method was used to know projection of TRPM3-IR neurons to oro-facial regions. Half of TG neurons innervating the facial skin or incisive papilla had TRPM3. They occasionally co-expressed TRPV1 or CGRP. Many PG and JG neurons innervating the external ear canal skin and circumvallate papilla contained TRPM3-immunoreactivity. Co-expression of TRPM3 with TRPV1 or CGRP was common among PG and JG neurons innervating the external ear canal skin, but was rare among those innervating the circumvallate papilla. This study indicates that expression of TRPM3 and its co-expression with TRPV1 and CGRP in sensory neurons depend on the variety of their peripheral targets.

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

P2-23 3種増粘剤に対するラットのニビン選択実験

○中村 文彦, 安尾 敏明, 諏訪部 武, 裕 哲崇

朝日大 歯 口腔生理

【目的】

臨床現場では、嚥下困難な患者の嚥下を助けるために食品への増粘剤の添加が行われているが、増粘剤そのものがどのような嗜好性を示すのか、および、増粘剤の添加が味覚嗜好性をどのように変化させるのかは明らかでない。本研究では、Wistar ラットを用いたニビン選択実験により3種の0.3%増粘剤そのものの嗜好性、および4基本味にこれらの増粘剤が添加された時にその嗜好性がどのように変化するかを調べた。

【方法】

実験には、雄性 Wistar/ST ラット（実験開始時8週令；n=15）を用いた。増粘剤には、キサンタンガム (X)、グアガム (G) およびペクチン (P) のそれぞれ0.3%溶液を用いた。4基本味溶液には、0.1M ショ糖、0.1M 食塩、3mM 塩酸および1mM 塩酸キニーネを用いた。

（実験1）増粘剤そのものの嗜好性を48時間ニビン選択実験法（対蒸留水）により検討した。ビンの位置による影響を排除するため、ビンの位置は24時間ごとに交換した。結果は、嗜好パーセント = (増粘剤溶液飲み量 (g)) ÷ (増粘剤溶液飲み量 (g) + 蒸留水の飲み量 (g)) × 100 とした。

（実験2）各基本味溶液に増粘剤を添加する前後での対蒸留水の嗜好パーセントを実験1と同様の方法で比較した。

【結果と考察】

（実験1）XとGの嗜好性は20%以下であり、これらの増粘剤そのものが、ラットに対して嫌悪性を発揮することがわかった。またXとGに対する嗜好パーセントは、Pのものより有意に低かった。

（実験2）基本味物質に対してこれらの増粘剤を添加した場合の嗜好性の変化は添加する増粘剤とその味質により一様でなく、様々なパターンが見られた。

【結論】

増粘剤そのものが食品の嗜好性に関与する。

味を有する食品への増粘剤の添加は、その嗜好性を変化させることがある。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-23 Two bottle preference test for 3 thickeners in rats

○Nakamura F, Yasuo T, Suwabe T, Sako N

Dept Oral Physiol, Fac Dent, Asahi Univ

In the clinical scene, thickeners are used for the patients with dysphagia to make their swallowing easier. In this study, we investigated the preference for 3 thickeners, such as xanthan gum (X), guar gum (G) and pectin (P) by using two bottle preference test in Wistar rats. As results, the preference percent to 0.3% P was higher than those to 0.3% X and 0.3% G significantly. When one of 4 basic taste substances was mixed with these thickeners, change of preference depended on the kinds of thickeners and taste substances. These results suggest that some of thickeners change preference of drinks by mixing them.

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

P2-24 抗不整脈薬フレカイニドによる酸味感受性の増強

○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^{1,3}

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】薬物性味覚障害は、味覚障害の中でも発生頻度が高く、患者のQOLの低下のみならず、薬物治療の遂行にも悪影響を及ぼす有害事象であるが、その発症の分子機構には不明な点が多い。本研究では酸味あるいは塩味に着目し、薬物が味感受性に及ぼす影響とその分子機序について検討した。

【方法、結果および考察】酸味あるいは塩味はH⁺やNa⁺イオンといった電解質が呈する味であることから、それら電解質の代謝に関連する薬物を調査対象とした。味細胞幹細胞の三次元培養系であるマウス味蕾オルガノイドを用いて、対象薬物の中から味細胞に何らかの影響を及ぼすものを探索した。各薬物存在下で味蕾オルガノイドを培養すると、抗不整脈薬のフレカイニド投与群において味蕾オルガノイドの成長が15日目以降で停滞した。次に、フレカイニドをマウス腹腔内に一ヶ月間連続投与、または試験30分前に単回投与し、様々な味溶液に対する10秒間リック（舐め）数を計測した。その結果、両投与マウスにおいて酸味（HCl）に対して有意にリック数の減少（忌避の増強）が見られた。一方、他の味質では変化が認められなかった。さらに、この酸味増強に関与する分子候補として、酸味受容体の一つであるOtopetrin 1 (Otop1) チャンネルに着目し、フレカイニドの作用を検討した。マウスOtop1遺伝子を強制発現させたHEK293T培養細胞系を用いた解析の結果、HClにより惹起されるOtop1の膜電位は、フレカイニドの濃度依存的に増強することが分かった。以上の結果から、フレカイニドは長期的にオルガノイド味細胞の分化増殖に何らかの抑制的な影響を及ぼしていること、また長期及び短期的に酸味を特異的に増強し、その作用機構にOtop1が関与す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。

P2-24 The enhancing effect of flecainide on sour taste sensitivity in mice

○Kawabata Y¹, Takai S¹, Yoshida R², Sanematsu K^{1,3}, Shigemura N^{1,3}

¹Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Dept Oral Physiol, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ³R&D Center for Five-Sense Devices, Kyushu Univ

Drug-induced taste disturbance is the most common taste disorders. However the molecular mechanism underlying these taste disorders has not been fully understood yet. We focused on taste disorders induced by drugs used to treat electrolyte dysbolisms. First, we screened the several drugs affecting taste bud growth by utilizing taste bud organoids from murine circumvallate papilla. One of them, flecainide, an antiarrhythmic agent, reduced the size of organoid colonies. Next, we investigated the effects of flecainide on behavioral taste responses. The mice treated with long-term (1 month) or single intraperitoneal injection of flecainide exhibited significantly lower licking rate to HCl than those found in control mice, but not to the other basic taste solutions. In addition, we looked at the involvement of otopetrin-1 (Otop1) channel, a sour taste receptor, in the modulated HCl responses by flecainide. Flecainide application enhanced HCl-induced membrane potential of the HEK293T cells transfected with mouse Otop1. These results suggest that flecainide might enhance the aversive behavioral responses selectively to sour taste, and Otop1 may be involved in this sour taste modulation.

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

P2-25 ラットの味覚神経節細胞における栄養素感知のメカニズムについて

○諏訪部 武, 安尾 敏明, 裕 哲崇

朝日大 歯 口腔生理

【目的】 味覚機能は栄養バランスの影響を受けるが、味覚と栄養の情報の統合メカニズムについてはほとんど知られていない。本研究では、末梢神経系における栄養と味覚情報の統合メカニズムを明らかにする目的で、ラット膝神経節における栄養感知のための味覚受容体の存在を調査した。

【方法】 本研究では成体の雄ラットを用いた。ラットの膝神経節から抽出した全 RNA を逆転写し、味覚受容体関連遺伝子 (α ENaC, T1R3, α ガストデューシンおよび Trpm5 の mRNA) の存在について qRT-PCR でテストした。ラットの膝神経節の凍結切片を作製し、抗 α ENaC 抗体および抗 Trpm5 抗体を用いて免疫染色した。

【結果】 qRT-PCR によって塩味受容体の一種である上皮性ナトリウムイオンチャネルの α サブユニット α ENaC, 甘味受容体を構成する分子である T1R3, 味覚特異的 G タンパク質サブユニットである α ガストデューシンおよび味細胞内の情報伝達機構において α ガストデューシンの下流に存在する TRP チャネルである Trpm5 の mRNA がラットの膝神経節で検出された。免疫組織化学によって α ENaC 免疫反応性を持つニューロンと Trpm5 免疫反応性を持つニューロンが膝神経節で検出された。

【結論】 塩味受容体の一種である上皮性ナトリウムイオンチャネル α サブユニット α ENaC と甘味受容体を構成する分子である T1R3 の mRNA が膝神経節で発現していることは、膝神経節ニューロンが体液中のナトリウムおよびグルコース濃度の変動を感知す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。

P2-25 Possible mechanism of nutrient sensing in gustatory ganglion cells of rats

○Suwabe T, Yasuo T, Sako N

Dept Oral Physiol, Fac Dent, Asahi Univ

Purpose: Sensory function is influenced by nutritional balance. However, little is known about mechanism for integration of sensory and nutritional informations. In this study, we investigated the existence of taste receptors for nutrient sensing in the rat geniculate ganglion to determine possible mechanism for integration of nutrition and gustatory informations in the peripheral nervous system.

Methods: Subjects were adult male rats. Reverse transcribed total RNA extracts of geniculate ganglia from rats were tested by qRT-PCR for the presence of taste receptor-related mRNAs. Cryosections of geniculate ganglia were immunostained with anti- α ENaC and anti-Trpm5 antibodies.

Results: A salt taste receptor α ENaC, a sweet taste receptor component T1R3, a taste-specific G protein subunit α -gustducin and the downstream element Trpm5 mRNAs were detected in geniculate ganglia of rats by qRT-PCR. Neurons with α ENaC-immunoreactivity and those with Trpm5-immunoreactivity were detected in the ganglia by immunohistochemistry.

Conclusions: A salt taste receptor and a sweet taste receptor component mRNAs were expressed in the geniculate ganglion suggesting the ability to sense fluctuations of sodium and glucose concentrations in body fluid.

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

P2-26 三環系抗うつ薬イミプラミンの歯周病原細菌由来 LPS が誘導するミクログリアによる神経障害抑制効果

○山脇 洋輔¹, 兼松 隆²

¹第一薬大薬薬物治療, ²九大 院歯 口腔機能分子

【背景】 歯周病は、全身性の慢性炎症を誘導しアルツハイマー型認知症などの中枢神経機能障害を起こすリスク要因である。歯周病原細菌である *P. gingivalis* 由来のリポ多糖 (PgLPS) を末梢投与したマウスでは、ミクログリア活性化に伴い認知機能障害を起こすことが明らかとなった。本研究では、抗炎症効果を有する抗うつ薬が、PgLPS が誘導するミクログリアの炎症応答と続く神経障害を抑制するかを、検討した。

【材料と方法】 培養ミクログリア細胞 (MG-6) を PgLPS とイミプラミンで処理してサンプルを得た。タンパク質と遺伝子発現は、ウエスタンブロットとリアルタイム PCR 法で評価した。ミクログリアによる神経細胞死の評価は、上記の各培養上清を培養神経細胞 (Neuro-2A) に 24 時間処置し、Cell Counting Kit 8 を用いて行った。

【結果および考察】 MG-6 に対する PgLPS (100 ng/mL) 刺激は、NF- κ B シグナル活性化 (IKK のリン酸化亢進, I κ B の分解促進) と炎症性サイトカイン (*Il-1b*, *Tnf-a*) の遺伝子発現を亢進させ、この培養上清は、Neuro2A の細胞死を誘導した。この細胞死は、NF- κ B 阻害薬 (BAY11-7085) の処理で抑制された。一方、MG-6 をイミプラミン (25 μ M) で前処理すると、PgLPS が誘導する NF- κ B シグナルの活性化と炎症性サイトカイン遺伝子発現は顕著に抑制され、MG-6 の培養上清が起こす神経細胞死を抑制できた。以上より、イミプラミンは NF- κ B シグナルを抑制して PgLPS によるミクログリア活性化が引き起こす神経細胞死を改善する効果を有することが明らかとなった。

【共同研究者】 広大・院・歯・矯正歯科 谷本 幸太郎, 曾 浩紀

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-26 A potential action of imipramine for the amelioration of neural impairment, which is induced by microglia exposed to *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide

○Yamawaki Y¹, Kanematsu T²

¹Lab Adv Pharmacol, Daiichi Univ Pharm; ²Dept Cell Biol Pharmacol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

Local inflammation like periodontal disease spreads systemically and causes immune-mediated inflammation in a remote organ. Therefore, periodontal diseases are a risk factor promoting neural dysfunction such as Alzheimer's disease. Peripheral injection of *P. gingivalis*-derived lipopolysaccharide (PgLPS) induced microglial inflammatory response leading to cognitive dysfunction in mice. In this study, we investigated whether imipramine, an antidepressant having anti-inflammatory effects, inhibits PgLPS-induced microglial inflammatory responses and neural impairments using cell cultures. Treatment of MG-6 (microglia) with PgLPS activated NF- κ B signaling followed by promoting pro-inflammatory cytokine expression, and the culture media induced Neuro-2A (neuron) cell death. The pre-treatment of imipramine inhibited NF- κ B signaling and PgLPS-induced inflammatory responses in MG-6; consistently, culture medium-provoked neural cell death was prevented. These results indicate that imipramine inhibits PgLPS-induced inflammatory responses of microglia and can ameliorate periodontal disease-related neural dysfunction.

Collaborators: Hiroki So and Tanimoto Kotaro (Department of Orthodontics and Craniofacial Development Biology, Hiroshima University)

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

P2-27 β アレスチンシグナルを介したムスカリン受容体刺激による遺伝子発現の亢進

○森田 貴雄¹, 根津 顕弘², 佐藤 律子^{1,3}, 谷村 明彦²

¹日歯大 新潟生命歯 生化, ²北医療大 歯 薬理, ³日歯大 新潟短大 歯科衛生

【目的】ムスカリン受容体アゴニストのピロカルピンは、シェーグレン症候群などの口腔乾燥症に対する唾液分泌促進薬として使われており、継続的投与により唾液分泌が漸次的に亢進するが、その分子メカニズムは明らかになっていない。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増減することを報告した。本研究では、培養細胞を用いて、ピロカルピンなどムスカリンアゴニストによる遺伝子発現変化の細胞内分子メカニズムを検討した。

【方法】ピロカルピン (Pilo, 塩酸ピロカルピン, 和光純薬) あるいはセビメリン (Cev, サリグレンカプセル, 日本化薬) を麻酔下のラットに投与し、唾液分泌量を測定するとともに、顎下腺と脳から total RNA を抽出した。ヒト神経芽細胞腫由来細胞 (SH-SY5Y) を Pilo または Cev で刺激し、3日後に total RNA を抽出した。これらの RNA から cDNA を作製し、GAPDH の発現量を内部標準として RT-PCR および定量 PCR により各遺伝子の発現量変化を比較した。Primer 3 ソフトウェアを用いて PCR プライマーの設計を行った。PathHunter eXpress β -Arrestin assay kit (Discover 社) を用いて β アレスチンアッセイを行った。

【結果と考察】ラットへの Pilo (1 mg/kg) または Cev (10 mg/kg) の2回投与による唾液分泌量の増加が観察された。ラット組織において発現量の変化した遺伝子の発現変化を培養細胞 (SH-SY5Y) で解析したところ、Pilo と Cev 刺激による発現変化が異なっていた。また Pilo 刺激による遺伝子発現の亢進は β アレスチン阻害薬で抑制された。さらに β アレスチンアッセイの結果、Pilo を含むムスカリン受容体アゴニストは β アレスチン活性を用量依存的に上昇させた。これらのことから、Pilo や Cev 刺激による遺伝子発現変化は β アレスチンシグナル系を介することが示唆された。今後は遺伝子発現と唾液分泌亢進作用との関係を検討する。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-27 Gene expression through β -arrestin signaling induced by stimulation with muscarinic agonists

○Morita T¹, Nezu A², Sato R^{1,3}, Tanimura A²

¹Dept Biochem, Nippon Dent Univ Niigata; ²Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ³Dept Dent Hyg, Nippon Dent Univ Coll 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. Although Pilo and Cev cause the increases in salivary secretion by its long-term (more than 12 weeks) administration clinically, the molecular mechanism is still unknown. 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 neuroblastoma cells (SH-SY5Y). The results of qRT-PCR analyses showed the expressions of some genes were up-regulated by the stimulation with Pilo or Cev compared to that of unstimulated control. In addition, Pilo-induced up-regulations of genes were inhibited by inhibitor of β -arrestin signaling. The results of β -arrestin assay showed Pilo and another muscarinic agonist activated β -arrestin in a dose-dependent manner. These results show the possibility that Pilo and Cev regulate gene expression through β -arrestin signaling.

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

P2-28 脂肪添加含量の違いとフラクトオリゴ糖添加が唾液中 IgA 分泌速度に与える効果

○山本 裕子¹, 猿田 樹理², 坂口 和歌子², 東 雅啓², 槻木 恵一²

¹神歯大 短大 歯科衛生, ²神歯大 院歯 口腔科学

【目的】唾液中の IgA レベルに影響を与える食物を明らかにすることで、食事の変化により上気道感染症予防ができる可能性がある。これまでに動物実験で、難消化性糖類のフラクトオリゴ糖 (FOS) 添加により盲腸で産生された短鎖脂肪酸が唾液中 IgA 分泌速度の増加に関与する可能性を明らかにしてきた。本研究では脂肪添加含量の違いと FOS 添加の有無が唾液中 IgA 分泌速度に与える影響を検討した。

【方法】脂肪含量の違いと FOS 添加の有無を要因とした 2 × 2 の二元配置とした。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換し、飼料中の油脂は全てラードとした。ラード 6.0% を添加した低脂肪飼料と、ラード 22% を添加した高脂肪飼料のそれぞれに、FOS3.0% と無添加を設定した。7 週齢ラットを 1 週間予備飼育後に、各飼料を各群の体重増加量が等しくなるよう調整して摂取させた。10 週後に盲腸組織、盲腸内容物、血清、顎下腺、唾液を採取した。唾液、盲腸内容物、血清の IgA 濃度は ELISA 法にて測定した。また盲腸組織重量および盲腸内容物重量、盲腸内容物 pH を測定した。

【結果】唾液中 IgA 分泌速度については、脂肪添加含量の違いと FOS 添加の有無の交互作用が認められ ($p = 0.04$)、低脂肪 FOS 群において他群と比較して高値が認められた ($p < 0.05$)。また唾液中 IgA 分泌速度は血清中 IgA 濃度との間に正の相関が認められた ($r_s = 0.38, p = 0.03, n = 31$)。血清中 IgA 濃度については FOS 添加の有無の影響が認められなかったが ($p = 0.2$)、脂肪添加含量の違いの影響が認められた ($p = 0.01$)。

【考察】低脂肪摂取の場合は唾液中 IgA 分泌速度を増加させる FOS の効果が表れるが、高脂肪摂取の場合は FOS の効果が消失する可能性が示された。これまでの研究と合わせて考えると、唾液中 IgA 分泌速度の増加については、FOS 摂取により産生された短鎖脂肪酸だけでなく、食事の脂肪添加含量の違いも関与していることが示唆された。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-28 Effects of differences in fat addition and fructo-oligosaccharide addition on salivary IgA flow rate in rats

○Yamamoto Y¹, Saruta J², Sakaguchi W², To M², Tsukinoki K²

¹Sch Dent Hyg, Kanagawa Dent Univ Junior Coll; ²Dept Oral Sci, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ

We previously showed that increase in salivary immunoglobulin A (IgA) flow rate may be caused by short-chain fatty acids (SCFAs) produced in the cecum by the addition of fructo-oligosaccharides (FOS). In this study, we investigated the effect of differences in fat addition amounts and the presence or absence of FOS addition on salivary IgA flow rate. Eight-week-old rats were fed a low-fat diet with 6% lard and a high-fat diet with 22% lard and 3.0% FOS and no FOS for 10 weeks. Salivary IgA flow rate was higher in the low-fat FOS addition group than in the other groups ($p < 0.05$). Salivary IgA flow rate was positively correlated with serum IgA concentration ($r_s = 0.38, p = 0.03, n = 32$). The effect of different amounts of added fat on serum IgA concentrations was observed. These findings suggest that the effect of FOS induced increase in salivary IgA flow rate is apparent when fat intake is low but not when fat intake is high. Thus, increased salivary IgA flow rate may be caused by only short-chain fatty acids but also differences in dietary fat supplement content.

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

P2-29 Intravital imaging と遺伝子解析による唾液腺における代償性機能亢進の分子機構の解明

○根津 顕弘¹, 高橋 茂², 森田 貴雄³, 谷村 明彦¹

¹北医療大 歯 薬理, ²北大 院歯 口腔機能解剖, ³日歯大 新潟生命歯 生化

唾液腺は片側が機能不全に陥ると残った唾液腺が代償性に肥大し、低下した唾液分泌を補っている。我々は intravital Ca^{2+} imaging と微小圧力センサーを用いた唾液分泌の real-time 測定システムの併用により、代償性肥大を起こすシグナルが残った唾液腺を機能亢進腺に誘導することを明らかにした。本研究では、片側唾液腺の機能障害による反対側の機能亢進誘導の分子機構を解明するため、唾液分泌機能、遺伝子発現および組織化学的解析により検討を行った。ラット片側顎下腺の主導管を結紮後 3, 7 および 21 日 (3d, 7d および 21d) の反対側顎下腺における唾液分泌と Ca^{2+} 応答を調べた。21d の反対側顎下腺におけるアセチルコリン (ACh) による唾液分泌の ED_{50} は 80 (nmol/min) で、Sham 手術群 (140 nmol/min) と比べ ACh に対する感受性が 1.5 倍亢進していた。反対側の Ca^{2+} 応答はより低濃度の ACh (60 nmol/min) で惹起され、それに伴う唾液分泌の亢進が認められた。次世代シーケンシングによる遺伝子発現の網羅的解析と定量 PCR により、7d と 21d の反対側で有意に発現量が変化する 6 遺伝子 (Amy1a, Gadd45g, Irf7, EGF, AQP5 および Dbp) が同定された。また 3d の反対側では、腺房細胞マーカー (Amy1a) の発現上昇と導管マーカー (EGF) の発現低下が観察された。細胞増殖活性の検索のため抗 PCNA 抗体を用いた免疫染色により腺房細胞と導管の PCNA 陽性細胞数を算出したところ、3d の反対側顎下腺と耳下腺の腺房細胞で陽性率の増加が認められた。この結果は、片側障害により比較的早期の段階から唾液腺の導管から腺房細胞への変化や腺房細胞の増殖が起こっていることを示唆する。さらに 6 遺伝子をマーカーとして機能亢進誘導に対するアトロピンの効果を調べたところ、7d の反対側で発現変化する 4 遺伝子のうち 3 つで抑制が認められなかった。以上の結果から、誘導シグナルは副交感神経終末からの ACh 以外に、他の伝達物質が関与す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。

P2-29 Analysis of the molecular mechanism of compensatory hypertrophy-associated enhancement of salivary secretion using the intravital imaging and gene analysis

○Nezu A¹, Takahashi S², Morita T³, Tanimura A¹

¹Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ²Dept Oral Funct Anat, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ³Dept Biochem, Nippon Dent Univ Niigata

Dysfunction of unilateral salivary glands causes compensatory hypertrophy of the contralateral gland. We developed a method for real-time imaging of Ca^{2+} responses with simultaneous monitoring of salivary secretion in vivo, and found that ligation of main excretory duct (MED) of unilateral submandibular gland (SMG) induced compensatory hypertrophy in association with enhancement of salivary secretion and Ca^{2+} response. To clarify the molecular mechanism of the compensatory hyperfunctional SMG, we examined changes in salivary secretion, Ca^{2+} response and gene expression in SMG which are induced by MED ligation of unilateral SMG. Salivary secretion and Ca^{2+} response in contralateral SMG were enhanced by lower doses of acetylcholine (ACh) than those in control SMG after ligation for days 7 and 21. We performed comprehensive analyses of mRNA expression and qRT-PCR, and found that 6 genes were significantly changed in days 7 and 21 of contralateral SMG. In addition, amylase, an acinar marker gene was increased in days 3. To detect proliferative activity, we examined contralateral SMG and parotid gland immunohistochemically using anti-PCNA antibodies, and found that the number of PCNA-positive acinar cells increased in days 3. These results suggest that disorder of unilateral SMG causes acinar cell proliferation at a relatively early stage.

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

P2-30 シェーグレン症候群モデルマウスと若年および高齢マウスにおける S100 タンパク質の発現比較

○佐藤 律子¹, 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 新潟生命歯 生化, ³日歯大 新潟生命歯 補綴, ⁴日歯大 新潟生命歯 小児歯

【目的】 S100 タンパク質 (S100) は, カルシウム結合性ドメインを持つ低分子量のタンパク質群で, 20 種類以上が知られている. それぞれに組織・細胞に特異的な発現が報告されており, 様々な疾患との関連性が示唆されているため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 の発現と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.

【材料・方法】 野生型と NOD マウスの耳下腺および耳下腺腺房細胞における cDNA マイクロアレイ解析を行い, 各 S100 の mRNA の発現を比較した. マウス耳下腺から抽出した RNA をもとに RT-PCR を行い, 検出された S100 について qPCR で発現量を比較した.

【結果・考察】 cDNA マイクロアレイ解析の結果, NOD マウスの耳下腺では, 12 種類の S100 の発現が野生型に比べて低かった. RT-PCR により, A1, A4, A6, A10, A11, A13, A16, B の各 S100 mRNA のバンドが検出された. それらの mRNA の発現量を qPCR で調べた結果, 野生型マウス (26~31w) に比べて NOD マウス (26~31w) の耳下腺で S100A1, A10, A16 の発現が高い傾向を示した. さらに野生型若年マウス (12w) と野生型高齢 (26~31w) マウスとの比較では A1, A10, A16, B で若年マウスの mRNA 発現が高かった.

【結論】 野生型と NOD マウス, 野生型でも若年と高齢マウスでいくつかの S100 の発現に違いがみられたことから, これらの S100 が加齢や疾患と関係している可能性が考えられた. 今後はこれらの関係についての解析をさらに進める.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P2-30 Comparison of expression of S100 proteins in parotid glands of Sjögren's Syndrome model mice, young and old mice

○Sato R¹, Nashida T², Mizuhashi F³, Shimomura-Kuroki J⁴, Morita T²

¹Dept Dent Hyg, Nippon Dent Univ Coll Niigata; ²Dept Biochem, Nippon Dent Univ Niigata; ³Dept Remov Prosthodont, Nippon Dent Univ Niigata; ⁴Dept Pediatr Dent, Nippon Dent Univ Niigata

The S100 proteins (S100) have over 20 members, which are low molecule weight proteins with calcium binding domains. They have tissue- or cell- specific expression and relate to some diseases. So some of them are 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. The cDNA microarray of salivary glands of NOD and wild type mice showed the expression levels of mRNAs of twelve S100s in NOD. As the results of RT-PCR, S100A1, A4, A6, A10, A11, A13, A16 and B mRNA were observed in NOD and wild mice. As the results of q-PCR, higher expression level of S100A1, A10 and A16 mRNA were observed in NOD mice (26~31w) than the wild mice (26~31w). In addition, higher expression levels of S100A1, A10, A16 and B mRNA were observed in younger mice (12w) than the older ones (26~31w).

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

P2-31 Sjögren 症候群における臨床データと網羅的免疫組織染色結果との比較

○大野 淳也, 佐野 拓人, 岡田 康男

日歯大 新潟生命歯 病理

【緒言】 Sjögren 症候群は、中高年の女性に好発する自己免疫疾患であり、病理組織学的には、導管周囲のリンパ球浸潤、腺房の萎縮・消失、線維化、脂肪置換がみられることが特徴であり、病理診断の際には、Focus Score (FS) を算出し、Greenspan の分類を用いて評価しているが、これらが臨床症状を反映しているかについての報告は少ない。そこで、口唇腺の生検組織を用いて病理組織学的特徴、免疫組織化学染色、臨床検査データ、核医学検査所見について対比し、また、NF- κ B 経路についても検討を行ったので報告する。

【対象と方法】 対象は、日本歯科大学新潟病院口腔外科で口唇腺の生検を行った Sjögren 症候群患者 20 例である。性別は全例女性で、年齢は 41 ~ 70 歳(平均 61.3 歳)である。HE 染色標本を Review し、FS を算出した。また、CD4, CD8, CD20, CD25, Bcl-2, BR3, NF- κ B, TNFAIP3, I κ B α による免疫組織化学染色を行った。病理組織学的所見、免疫組織化学染色結果に、臨床データの所見を加え検討を行った。

【結果】 FS とサクソンテスト結果との関連を比較検討したところ、各症例の FS 最高値と平均値が高いほどサクソンテストの値が低い傾向を示した。FS と SS-A, SS-B, ANA との関連を検討したところ、SS-A のみが陽性の症例は 8 例で、そのうち FS が 1 以上の症例は 7 例、FS の平均は 1.9 で、ANA は 6 例が陽性であった。SS-A と SS-B の両方が陽性の症例は 4 例あり、いずれも FS が 1 以上であり、その平均は 3.2 で、ANA も陽性であった。免疫組織化学染色では、CD4 陽性 T 細胞数は CD8 陽性 T 細胞数に比べ多い傾向を示した。NF- κ B, TNFAIP3, I κ B α は全例において、高い染色陽性率が認められた。

【結論】 各症例の FS 最高値と平均値が高いほどサクソンテストの値が低い傾向を示した。すべての症例において NF- κ B, TNFAIP3 および I κ B α で高い陽性率が認められたことから NF- κ B 経路が Sjögren 症候群の病態に関連するものと考えられた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-31 Comparison of clinical data and exhaustive immunohistochemical staining results in Sjögren's syndrome

○Ono J, Sano H, Okada Y

Dept Pathol, Nippon Dent Univ Niigatad

Sjögren syndrome is an autoimmune disease characterized by sicca syndrome. Mean age of onset is usually in middle female. Although pathogenesis exist unclear point. We were performed immunohistochemical and clinicopathological evaluation. We evaluated 20 biopsy cases minor salivary gland. CD4 CD8 CD20 CD25 Bcl-2 BR3 NF- κ B TNFAIP3 I κ B α by immunohistochemical and clinical test of salivary gland function had compared. SS-A only positive cases were 8 cases. Over 1 Focus Score (FS) was 7 cases. Average FS was 1.9. ANA was 6 cases positive. Both SS-A and SS-B positive cases was 4 cases. Over 1 FS was 4 cases. Average FS was 3.2. ANA was 4 cases positive. Highest FS and average FS was tend to low Saxon test score. All cases had detected NF- κ B TNFAIP3 and I κ B α high positive rate. Our data suggest NF- κ B pathway related to Sjögren syndrome.

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

P2-32 マウス唾液腺原基・脾細胞共培養系を用いた ex vivo シェーグレン症候群モデルにおけるヒト歯髄幹細胞由来細胞外小胞の効果

○小間 義朗, 酒井 陽, Dong Jiao, 丸山 裕, Liu Kehong, 渡邊 純奈, 日比 英晴

名大院医 顎顔面外科

【背景】ヒト歯髄幹細胞由来細胞外小胞が様々な疾患に対し治療効果を持つことが知られている。これまでにわれわれは間葉系幹細胞由来細胞外小胞がラット BRONJ モデルの疾患発症を予防し、その機構が細胞老化の抑制であることを解明した。近年シェーグレン症候群における唾液分泌低下に細胞老化が関与する可能性が報告され細胞老化に対する治療アプローチが期待されている。

【目的】脾細胞との共培養によりマウス顎下腺原基にシェーグレン症候群様の変化を誘導し、ヒト歯髄幹細胞由来細胞外小胞の持つ効果を明らかにすることを目的とした。

【方法】妊娠 13 日目の ICR マウスから胎児と脾臓を摘出し、胎児から唾液腺原基、脾臓から脾細胞を分離した。唾液腺原基は培地上に浮かべたメンブレン上で、その培地中で脾細胞をコンカナバリン A により刺激して培養し、共培養した。この共培養系に対するヒト歯髄幹細胞由来細胞外小胞の効果について組織染色、qRT-PCR により解析した。

【結果】マウス唾液腺原基・脾細胞共培養系において、唾液腺原基の分葉形成の低下を認めた。qRT-PCR により炎症やアポトーシス、細胞老化を示唆する mRNA 発現量の変化を認めた。TUNEL 染色、SA-B-galactosidase 染色で陽性細胞数が増加した。またこれらの変化はヒト歯髄幹細胞由来細胞外小胞の添加により改善した。

【結論】マウス唾液腺原基において、母親由来の脾細胞との共培養により炎症、アポトーシス、細胞老化が誘導され、この変化に対しヒト歯髄幹細胞由来細胞外小胞が治療的効果を持つことが示唆された。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-32 Effects of hDPSCs-derived extracellular vesicles in ex vivo murine Sjögren syndrome model

○Koma Y, Sakai K, Dong J, Maruyama H, Liu K, Watanabe J, Hibi H

Dept Oral Maxillofac Surg, Nagoya Univ Grad Sch Med

Recent studies have revealed the effects of human dental pulp stem cells (hDPSCs) and their secretory factors on various diseases. This study aimed to establish a new ex vivo salivary gland disease model and reveal the role of the therapeutic function of extracellular vesicles (EVs) derived from hDPSCs by salivary gland organ culture. Submandibular glands were dissected from fetal ICR mice, and organ culture was performed as previously reported. Splenocytes extracted from the maternal mice were added to the conditioned medium and co-cultured. EVs derived from the conditioned medium of hDPSCs were also added to the medium. The Splenocytes suppressed branching morphogenesis in the salivary glands. It was observed that branching morphogenesis improved in the group that was treated with EVs derived from hDPSCs. The increased mRNA expression levels of inflammatory, apoptotic, cellular senescence associated marker were observed. Examination of the co-culture system of fetal submandibular glands and immunocytes revealed that the immunocytes suppressed the growth of the submandibular glands, and the administration of EVs derived from hDPSCs alleviated the suppression. It is suggested that this model may serve as a new ex vivo model of for diseases presenting with abnormal immune response to the salivary glands.

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

P2-33 マウスの顎下線と唾液での心理的ストレスによる炎症性サイトカインの変化

○Paudel Durga¹, 森川 哲郎¹, 吉田 光希¹, 安彦 善裕¹

¹北医療大 歯 臨床口腔病理, ²北医療大 歯 保健衛生

P2-33 Psychological stress induced alteration of inflammatory cytokines in the submandibular glands and saliva of mice

○Paudel D¹, Morikawa T¹, Yoshida K¹, Abiko Y¹

¹Div Oral Med Pathol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ²Div Dis Control Mol Epidemiol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Purpose: Psychological stress is believed to cause or exaggerate various oral diseases such as recurrent aphthous stomatitis, oral lichen planus and burning mouth syndrome. The effect of psychological stress on salivary cytokines might be crucial in understanding the pathogenesis, diagnosis and treatment of stress related oral diseases. The purpose of our study is to demonstrate the effect of psychological stress on major inflammatory cytokines in salivary glands and saliva of chronic stressed mice model.

Material and methods: Six weeks C57BL/6J mice were randomly divided into control and stress group (n=10 each). The stress group mice were given restraint stress by enclosing them in a tube, 4 hours daily for 10 days. After 10 days, both group mice were sacrificed to collect submandibular, blood and saliva. The right submandibular gland was fixed in 10% neutral buffered formalin for 24 hours, processed and then embedded for histopathological sections. The left submandibular gland was preserved in RNAlater from which RNA was extracted followed by reverse transcription for mRNA expression analysis. Serum was collected from blood after centrifugation. Saliva was studied for cytokines level by enzyme linked immunosorbent assay. All statistical analyses were done in SPSS and p value <0.05 was considered statistically significant.

Results and conclusion: The serum corticosterone level, a marker of psychological stress, was significantly higher in stress group mice as compared to control group. At mRNA level, IL-1 B and IL-6 were significantly upregulated in submandibular gland of stress group mice than control. At protein level, IL-1 B was significantly upregulated in saliva of chronic stressed mice than control. The histopathological sections of submandibular gland showed no significant differences between stress group mice and control. IL-1 B might be a potential salivary biomarker for psychological stress and have role in pathogenesis of stress related oral diseases.

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

P2-34 唾液エクソソームにおける N-結合型糖タンパク質の糖鎖解析

○今井 あかね^{1,2}, 辻村 麻衣子³, 岡 俊哉⁴, 斎藤 英一⁵

¹日歯大 新潟短大 歯科衛生, ²日歯大 新潟生命歯 生化, ³日歯大 新潟生命歯 解剖 2, ⁴日歯大 新潟生命歯 生物, ⁵新潟工大 院工 生物機能化学

【目的】 唾液エクソソームに含有される N-結合型糖鎖解析を行い、青年期と熟年期における N 型糖タンパク質の違いを調べ、臨床検査の検体としての可能性を探る。

【対象・方法】 研究倫理委員会の承認 (NDUC-70-1) のもとで 2 つの年齢層女性 {19.9 ± 0.20 歳 (青年期) および 56.7 ± 1.17 歳 (熟年期) の各 9 名} より唾液の提供を受け、エクソソームを抽出した。抽出試料は、エクソソームマーカー (CD9, CD63, CD81, Alix) 抗体を用いたウエスタンブロットおよび粒子解析に供された。そのエクソソームペレットに 1% Triton X-100, 0.1% SDS, 100 mM 重炭酸アンモニウムを添加して、20 分間超音波破碎を行い、タンパク質の還元アルキル化、トリプシン消化、PNGase F による酵素消化をして、N 型糖鎖を遊離させ糖鎖を回収した。これを質量分析に供して得られた結果を糖鎖解析サイト (<https://glyconnect.expasy.org>) により N-glycan の構造を推定した。

【結果と考察】 熟年期エクソソームの方が総タンパク質量は多かったが、N-結合型糖鎖量では青年期の方が約 1.5 倍多かった。質量分析マスペクトルでは 55 種類の N-glycan ピークを検出した。糖鎖構造の違いを考慮すると 177 種類と推定される。一方、熟年期エクソソームのみにみられる糖鎖マスペクトルは 9 種に対して青年期では 16 種であった。また、唾液エクソソームに含まれる N 型糖タンパク質はイムノグロブリン、ラクトフェリン、ムチン、アミラーゼをはじめとする 131 種類と推測された。唾液エクソソーム中に癌などの疾病に関係している糖鎖が多数見られたため、これらの診断に唾液エクソソームが役立つ可能性が見いだされた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-34 Analysis of carbohydrate chains of N-glycoproteins in salivary exosomes

○Imai A^{1,2}, Tsujimura M³, Oka S⁴, Saitoh E⁵

¹Dept Dent Hyg, Nippon Dent Univ Coll Niigata; ²Dept Biochem, Nippon Dent Univ Niigata; ³Dept Histol, Nippon Dent Univ Niigata; ⁴Dept Biol, Nippon Dent Univ Niigata; ⁵Grad Sch Technol, Niigata Inst Technol

Purpose: To explore the potential of N-linked sugar chains in salivary exosomes as clinical test samples, we investigated the differences of them between adolescents and climacteric women.

Materials & Methods: After acquiring approval from the Research Ethics Committee (NDUC-70-1), saliva was provided from adolescent and climacteric women, and exosomes were extracted. The exosomes were subjected to western blot using exosome markers (CD9, CD63, CD81, Alix) antibody and particle analysis. N-type sugar chains were released and collected. The structure of N-glycan was derived from the results of mass spectrometry by sugar chain analysis site (<https://glyconnect.expasy.org>).

Results: Climacteric women's exosomes had more total protein than the adolescents' exosomes. However, adolescents' exosomes had approximately 1.5 times more N-linked glycan than climacteric women's exosome. Mass spectrometric spectra detected 55 N-glycan peaks. Difference in sugar chain structure was around 177 types. On the other hand, 16 sugar chains were found only in adolescent exosomes, against 9 glycan only in climacteric. N-type glycoprotein contained in salivary exosomes was estimated to be 131 types including immunoglobulin, lactoferrin, mucin, and amylase.

Conclusion: This study found many sugar chains related to diseases such as cancer, which can be useful for diagnosis.

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

P2-35 ラット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, ラマダニ ラトナ, 三戸 浩平, 石川 里奈, 石井 久淑

北医療大 歯 生理

【目的】唾液腺の血流動態は唾液分泌と密接に関わっていると考えられており、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唾液分泌と共に急峻な副交感神経性血流増加反応が誘発されることを報告している。これは口腔感覚入力による副交感神経の活性化が唾液分泌だけではなく唾液腺の血流動態の調節にも重要であることを示唆している。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また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。そこで本研究は、感覚入力の種類と唾液腺で誘発される副交感神経性血流増加反応の関係を明らかにするために、唾液分泌量に占める割合の高い耳下腺及び顎下腺における体性感覚及び味覚入力時の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し人工呼吸下で管理した。体幹血圧測定と薬物投与には大腿動静脈を用いた。頸部交感神経と迷走神経は頸部で切断し影響を排除した。下歯槽神経（体性感覚）及び味覚神経を電気刺激し、唾液腺の血流動態を2次元血流計を用いて記録した。

【結果および考察】下歯槽神経刺激により耳下腺及び顎下腺では刺激頻度依存性の血流増加反応が誘発され、耳下腺における血流増加は顎下腺と比較して有意に高かった。一方、味覚神経刺激により顎下腺では刺激頻度依存性の血流増加反応が誘発されたが、耳下腺では有意な血流増加反応は認められなかった。したがって、体性感覚入力は耳下腺における副交感神経性血流増加反応を顕著に誘発し、味覚入力は顎下腺における副交感神経性血流増加反応を誘発することが示され、感覚入力の種類によって副交感神経性血流増加反応の誘発が唾液腺種間で異なることが様々な環境下における唾液腺の相対分泌比の違いに重要であ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。

P2-35 Difference between somatosensory and gustatory input in the hemodynamics in rat major salivary glands

○Sato T, Ramadhani R, Mito K, Ishikawa R, Ishii H

Div Physiol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

We have demonstrated that trigeminal sensory stimulation induces marked increases in blood flow (BF) in major salivary gland (MSG) mediated by parasympathetic nerves, as well as salivation. This supports the importance of parasympathetic nerve activation linked with orofacial sensory input in not only salivation but also glandular hemodynamics. Relative secretion of MSG varies depending on the stimulus types (mechanical or gustatory stimulus). Thus, it is assumed that glandular hemodynamics are also regulated according to the stimulus types. To clarify this relationship between stimulus types and glandular parasympathetic BF increase, we analyzed the hemodynamics in MSG during electrical stimulation of the inferior alveolar nerve (IAN; somatosensory input) or taste nerve (TN; gustatory input) in urethane-anesthetized rats. IAN stimulation induced frequency-dependent BF increases in parotid gland (PG) and submandibular gland (SMG), and the increases in PG was significantly higher than that in SMG. TN stimulation induced frequency-dependent BF increase in SMG, but no significant BF increase was observed in PG. Therefore, our results indicate that parasympathetic BF increase in PG is only involved in somatosensory input, while that in SMG is activated with both inputs, and suggest that these differences would be related in the differences in relative secretion rate of MSG.

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

P2-36 東京歯科大学における唾液腺腫瘍の臨床病理統計

○中條 貴俊, 明石 良彦, 山田 玲菜, 山本 圭, 中島 啓, 國分 克寿, 松坂 賢一

東歯大 病理

東京歯科大学水道橋病院および千葉病院口腔外科を受診し, 1966年(昭和41年)1月から2016年(平成28年)11月までの約50年における病理組織検査のうち, 唾液腺腫瘍714例について検討を行った。唾液腺腫瘍の性別頻度は男性287例, 女性426例, 性別不明1例で, 女性は男性の約1.49倍であった。また良性腫瘍459例のうち, 男性174例, 女性284例, 性別不明1例で, 悪性腫瘍349例のうち男性113例, 女性236例であり, どちらも女性優位であった。発生部位別では, 大唾液腺が186例, 小唾液腺が505例, 部位不明が23例であった。良性腫瘍も悪性腫瘍も特に口蓋腺が大きな割合を示しており, 口蓋腺の良性腫瘍が242例, 悪性腫瘍が111例であった。大唾液腺については良性腫瘍では耳下腺が68例と多く, 悪性腫瘍では顎下腺が25例, 舌下腺が26例であった。最も多かった唾液腺腫瘍は多形腺腫で403例, 悪性腫瘍では腺様嚢胞癌が111例, 粘表皮癌が105例であった。

一般的に多形腺腫は耳下腺好発であるが, 本例では耳下腺原発が65例に対して口蓋腺原発が218例と多かった。これは今回の病理組織検査が口腔外科領域で検索されたものであり, 耳下腺領域を手術することが少ない歯科病院の特徴であると考えられた。また今回の結果では分泌癌と診断されたものはみられなかったが, 分泌癌は2010年に初めて報告された唾液腺腫瘍で, 従来腺房細胞癌と診断されたものには分泌癌である可能性も考えられた。確認できた症例には, 多形性低悪性度腺癌や, 上皮筋上皮癌といった比較的希少な症例もみられた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-36 Clinicopathological statistics of salivary gland tumors in Tokyo Dental College

○Chujo T, Akashi Y, Yamada R, Yamamoto K, Nakajima K, Kokubun K, Matsuzaka K

Dept Pathophysiol, Tokyo Dent Coll

We examined 714 cases of salivary gland tumors among the histopathological examinations in approximately 50 years from January 1966 to November 2016, after visiting the Department of Oral Surgery, Tokyo Dental College Chiba and Suidobashi Hospitals.

Salivary gland tumors had a gender frequency of 287 males, 426 females, and 1 case of unknown sex, with females being about 1.49 times more likely than males. There was female predominance in both benign and malignant tumors. Major salivary glands were found in 186 cases, minor salivary glands in 505 cases, and the site was unknown in 23 cases. The salivary gland tumors of the primary palate gland were predominant, with 242 cases of benign tumors of the palate gland and 111 cases of malignant tumors.

About the major salivary gland, 68 cases of benign tumors were in the parotid gland, 25 cases of malignant tumors were in the submandibular gland, and 26 cases were in the sublingual gland. The most common salivary gland tumor was pleomorphic adenoma in 403 cases, and among malignant tumors, adenoid cystic carcinoma in 111 cases and mucoepidermoid carcinoma in 105 cases.

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

P2-37 Notch シグナルは唾液腺筋上皮細胞の分化制御に関与する

○安原 理佳, 田中 準一, 美島 健二

昭大 歯 口腔病理

【目的】頭頸部癌の放射線照射などに起因する唾液腺の組織障害は唾液減少を招き様々な口腔疾患や誤嚥性肺炎などの誘因となる。外分泌腺である乳腺や汗腺の筋上皮細胞は、細胞系譜解析による幹細胞性が報告されている一方で、唾液腺筋上皮細胞については未だ不明な点が多い。本研究では唾液腺筋上皮細胞に着目し、単離と性質解析を目的とした。

【方法】筋上皮細胞に発現する Myh11 を指標に CreER-loxP system を用いた筋上皮細胞標識マウスを作製し、Myh11 発現細胞の細胞系譜を解析した。また、顎下腺から単離した筋上皮細胞の sphere 形成能と RNA sequence 法による網羅的な遺伝子発現解析を行なった。

【結果】成獣顎下腺における細胞系譜解析の結果、筋上皮細胞は単能性を示し、腺房や導管への分化は確認できなかった。FACS では Myh11 陽性細胞は 3% 程度存在した。Myh11 陽性細胞は既知の筋上皮細胞マーカー遺伝子である α SMA, Krt14 が高発現し、GSEA 解析では myogenesis や EMT に関与する遺伝子群の変動を認めた。in vitro において単離筋上皮細胞は高い sphere 形成能を示し、免疫組織化学的に Krt18 と Krt5 を示す 2 相性腺管を形成した。腺管構造は Notch 阻害剤で抑制され、Notch-IC によるシグナルの増強は Krt5 陽性細胞を欠いた篩状構造を呈する sphere 形成を促進した。

【考察】本研究手法により唾液腺筋上皮細胞の単離が行われ、その遺伝子発現プロファイルの作成が可能となった。また、in vivo において前駆細胞としての性質を有するが、in vitro の特殊な条件下においては、notch シグナルを介した導管様の腺管形成能を有することから、唾液腺腫瘍形成において tumor initiating cell としての役割を担う可能性が示唆された。本演題は歯科基礎医学会平成 30 年度若手研究者助成制度採択課題である

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P2-37 Mouse salivary gland-derived myoepithelial cells differentiate into ductal lineage via Notch signaling

○Yasuhara R, Tanaka J, Mishima K

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

Salivary hypofunction can lead to not only disruption of oral homeostasis but also systemic-pathological event such as aspiration pneumonia in severe cases. Although the exocrine glands-derived myoepithelial cells have been showed to be a stem/progenitor properties, the characterization of myoepithelial cells has not fully established. Here, we generated the time-specific Myosin Heavy chain 11 (MYH11) CreERT2/tdTomato mice to characterize myoepithelial cells in mouse salivary glands. Myh11-positive cells were found as myoepithelial cells, contains about 3% by flow cytometry, suggesting myoepithelial cells have unipotency in adult mouse submandibular glands in vivo. The data from RNA-seq showed Myh11-positive subset was enriched for myoepithelial cells, expressing well-known marker genes such as alpha-SMA and Krt14, and related with the gene sets including myogenesis and epithelial mesenchymal transformation. Interestingly, isolated myoepithelial cells had an ability to differentiate into ductal lineage via notch signaling in sphere culture though Myh11-positive duct or acinar were not found until at least 10 weeks after Cre induction in vivo. In conclusion, myoepithelial cells show unipotency at physiological conditions, while it possibly acquire bipotency to differentiate into not only myoepithelial cells but also ductal cells in vitro.

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

P2-38 TAS2R8 発現における亜鉛の役割○小島 剛志¹, 金子 良平¹, 前田 豊信², 鈴木 厚子², 山森 徹雄¹, 加藤 靖正²¹奥羽大 歯 補綴, ²奥羽大 歯 口腔生化

【目的】 亜鉛は味覚受容に重要な役割を果たしており、亜鉛投与は味覚機能を改善するため臨床で多く用いられている。しかし、味覚に対する亜鉛のメカニズムは完全には解明されていない。そこで本研究では、亜鉛欠乏が苦味知覚の受容体として知られている TAS2R の遺伝子発現に及ぼす影響を解析したので報告する。

【方法】 実験は、胎児腎細胞 HEK293 細胞と口腔扁平上皮癌細胞 Ca9-22 とを用いて行った。細胞内亜鉛除去のため、無血清培地に置換し、あるいは Zn²⁺ の細胞内キレート剤である N,N,N',N'-テトラキス(2-ピリジルメチル)エチレンジアミン (TPEN) で細胞を処理した。プロモーター活性はルシフェラーゼレポーターアッセイにより定量した。

【結果】 CA9-22 細胞を無血清培地にて長期間培養すると、TAS2R7 (プロモーター (-3285 ~ -1) や TAS2R42 プロモーター (-4873 ~ -1) には影響を及ぼさなかったが、TAS2R8 プロモーター (-2080 ~ -1) 活性は明らかに減少した。この減少は TPEN 添加でも観察された。また、長期間の無血清培養細胞における亜鉛の添加は、急速な TAS2R8 プロモーター活性を回復した。TAS2R8 プロモーターを連結したルシフェラーゼ構造物からトランケーション/デリベーションした変異体を用い解析を行った結果、-1152 ~ -1068 の領域または -1086 ~ -925 の領域が細胞内亜鉛依存性に重要であった。これらに共通し結合する転写因子のうち、亜鉛に依存する候補を検索したところ CTCF がその 1 つに挙げられた。CTCF 結合予想領域の配列に変異を導入することよりプロモーター活性を有意に抑制された。また、ChIP アッセイから、CTCF がこの領域に結合し、亜鉛欠乏が CTCF の結合を無効にすることがわかった。

【考察】 CTCF は TAS2R8 を介して亜鉛依存の苦味知覚に重要な役割を演じ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。

P2-38 Role of zinc in TAS2R8 expression○Kojima T¹, Kaneko R¹, Maeda T², Suzuki A², Yamamori T¹, Kato Y²¹Dept Prosthodontics, Sch Dent, Ohu Univ; ²Div Oral Biochem, Sch Dent, Ohu Univ

Objects: Zinc plays an important role of taste perception. Administration of zinc is useful in clinic to improve taste perception. However, role of zinc is not clear in-depth for taste perception. In the present study, we report the effect of zinc deficiency on the expression of TAS2Rs, which is a receptor for bitter taste perception.

Results: When CA9-22 cells were cultured in serum-free medium to deprive zinc, TAS2R8 promoter activity significantly decreased. This decrease was also observed with the addition of TPEN in serum-containing culture. Decreased in TAS2R8 promoter activity by serum deprivation was rescued by the addition of zinc into the serum-free cultures. Using a truncation/deletion mutant of the TAS2R8 promoter, the region of -1152 ~ -1068 or -1086 ~ -925 was identified to be responsible for zinc-dependent bitter taste perception. *In silico* analysis revealed CTCF binding sites as the zinc-dependent candidates in those sequences. TAS2R8 promoter activity was reduced by the introduction of mutation in CTCF binding site. In addition, the ChIP assay investigated CTCF binding to the regions and abrogation of CTCF binding to the regions by zinc deprivation.

Conclusion: It is suggested that CTCF plays an important role in zinc-dependent bitter taste perception via TAS2R8.

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

P3-01 Mitf 遺伝子変異が咬筋における組織リモデリングに及ぼす影響

○成山 明具美¹, 大貫 芳樹², 吹田 憲治², 伊藤 愛子³, 石川 美紗緒⁴, 松尾 一郎⁵,
早川 佳男⁶, 梅木 大輔³, 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, ⁵鶴大 歯歯周病, ⁶鶴大 歯麻酔

【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, 咬筋の線維化, アポトーシスおよびオートファジーに対する *mitf* 変異の影響について解析した.

【方法】12 週齢雄の *mi/mi* および野生型 (WT) マウス咬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組織学的解析を行った. さらに, 線維化, アポトーシス, オートファジーに関連するシグナル因子の活性化レベルをウェスタンブロッティング法にて解析した.

【結果】組織学的解析により *mi/mi* 咬筋では, WT と比較して CSA の減少および線維化領域とアポトーシスの増加がみとめられた. 一方, シグナル解析により WT と比較して *mi/mi* 咬筋では, 線維化のシグナル因子である p44/42 MAP kinase (Thr202/Tyr204) のリン酸化レベルおよび α -smooth muscle actin は有意に増加した. また, アポトーシスの促進因子である BAX の増加およびその抑制因子である Bcl-2 の減少がみとめられた. さらに, *mi/mi* 咬筋では WT と比較し, オートファジー抑制因子である Akt および mTOR のリン酸化レベルが, 有意に増加し, その促進因子である p62 のリン酸化レベルは有意に減少した. 加えて, p62 および LC3 のレベルは有意に増加した.

【結論】以上の結果から, *mitf* 変異がオートファジー機能を抑制することにより, 咬筋の組織リモデリング (萎縮, 線維化およびアポトーシス) を誘導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.

P3-01 Role of microphthalmia-associated transcription factor in masseter muscle remodeling

○Nariyama M¹, Ohnuki Y², Suita K², Ito A³, Ishikawa M⁴, Matsuo I⁵, Hayakawa Y⁶, Umeki D³,
Asada Y¹, Okumura S²

¹Dept Pediatr Dent, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Dept Physiol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ³Dept Orthodont, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ⁴Dept Oral Anat, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ⁵Dept Periodont, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ⁶Dept Dent Anesthesiol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

It has been reported that microphthalmia-associated transcription factor (MITF) plays an important role for the development of cardiac remodeling 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 MA, we examined the effects of *mitf* mutation on muscle fibrosis, myocyte apoptosis, and signal transduction in mice with *mitf* gene mutation (*mi/mi*). Muscle atrophy, fibrosis area and myocyte apoptosis in MA were much greater in *mi/mi*, compared to WT. In addition, ERK phosphorylation and α -smooth muscle actin expression, which are known as a biomarker of fibrosis, were also significantly greater in *mi/mi* than in WT. Bax, an accelerator of apoptosis, was significantly increased and anti-apoptotic protein Bcl2 was significantly decreased in *mi/mi*, compared to the WT. The *mi/mi* also showed the increased phosphorylation of Akt and mTOR and the decreased p62 phosphorylation. In addition, expressions of p62 and LC3 were significantly greater in *mi/mi* than in WT. These results suggest that MA remodeling in *mi/mi* might be induced through the decreased autophagic activity.

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

P3-02 TNF- α 刺激ヒト歯肉線維芽細胞の MMP-1 と MMP-3 分泌におけるシグナル伝達に対する S-PRG フィラー溶出液の影響

○井上 博, 毛 丹, 合田 征司

大歯大 歯生理

【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 フィラー溶出液とした. 1) 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. 2) TNF- α 刺激した HGF に希釈した S-PRG フィラー溶出液を加え, ウェスタンブロットングにより ERK についてリン酸化のタイムコースを検討した. その結果, TNF- α 単独刺激および TNF- α と S-PRG フィラー溶出液の共刺激による ERK のリン酸化は, 15 分と 30 分に認められ, そのピークは共に 15 分であった. TNF- α 刺激と S-PRG フィラー溶出液の共刺激による ERK のリン酸化は TNF- α 単独刺激より僅かに増強していた.

【考察】 以上の結果から 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. また, その作用のメカニズムには ERK 非依存性の伝達経路を介し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.

P3-02 Effect of S-PRG filler eluate on signal transduction in MMP-1 and MMP-3 secretion in TNF- α stimulated human gingival fibroblasts

○Inoue H, Mao D, 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 TNF- α -stimulated human gingival fibroblasts (HGF). TNF- α and S-PRG filler eluate were 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, which was significantly increased by the TNF- α stimulation, was suppressed by S-PRG filler eluate. We assessed the effects of S-PRG filler eluate induced phosphorylation of ERK in HGF by immunoblotting. Phosphorylation of ERK by TNF- α alone stimulation and co-stimulation of TNF- α and S-PRG filler eluate was observed at 15 and 30 minutes. The phosphorylation of ERK by the co-stimulation with TNF- α and S-PRG filler eluate was slightly stronger than that by TNF- α alone. The present results demonstrated that S-PRG filler eluate suppressed the TNF- α -induced secretion of MMP-1 and MMP-3. The underlying mechanisms may involve an ERK-independent signaling pathway.

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

P3-03 歯周病原性細菌由来 LPS に誘導される炎症応答に対する β -glucan の作用

○Thongsiri Chuencheewit¹, 西原 達次², 有吉 渉²

¹九歯大 歯周, ²九歯大 感染分子生物

P3-03 The regulatory effect of beta-glucan on the expression of IL-10 induced by LPS of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in murine macrophages

○Thongsiri C¹, Nishihara T², Ariyoshi W²

¹Div Periodont, Kyushu Dent Univ; ²Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ

Beta-glucan is glucose polymers derived from several sources such as bacteria, fungi, yeast, seaweed and cereals. Current data demonstrate that beta-glucans are potent immunomodulator with effects on innate and adaptive immune response via dectin-1 as the main receptor. The biological effect of beta-glucans on immune response are dependent on its chemical structures and purity. The objective of this study was to investigate the biological effect of beta-glucan from *Schizophyllum commune* or *Schizophyllum* (SPG) on anti-inflammatory cytokine expression induced by periodontopathic bacteria in murine macrophages (J774.1). The dectin-1A over expression cells (dectin-1A/J774.1) were used to observed the response of SPG priming effect induced by LPS (A.a), compared to the free gene transfected cells (control/J774.1). The expression of IL-10 mRNA and protein were observed by Real time RT-PCR and ELISA, the regulative role of cell signaling NF- κ B, MAPK, MSK1 and CREB were investigated by western blot analysis. Priming of SPG elevated expression of IL-10 induced by LPS derived from *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in dectin-1A/J774.1, while the stimulating effect of SPG was not observed in control cells, suggesting that SPG and dectin-1 interaction up-regulates IL-10 expression induced by LPS. The regulative effect of SPG on IL-10 expression is dependent on prolongation of nuclear translocation activity in NF- κ B pathway induced by LPS. We also found that LPS-induced phosphorylation of MSK1 and CREB, followed by up-regulation of IL-10 was stimulated by SPG priming via activation of Syk pathway. This data indicated that SPG augments the anti-inflammatory response in murine macrophages and plays an important role in innate immunity.

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

P3-04 高度肥満症患者の空腸における味覚シグナル分子の伝令 RNA 発現レベル○安尾 敏明^{1,2}, 裕 哲崇¹, ニノ宮 裕三^{2,3}¹朝日大 歯 口腔生理, ²モネル化学感覚研, ³九大 味覚・嗅覚センサ研究開発セ

肥満症は深刻な健康問題である。これまで多くの研究において、食物を摂取した際の口腔内における味覚刺激と腸管からのフィードバックは、エネルギー摂取調節に寄与する可能性が示されている。また、最近の研究では、G-タンパク質のガストドゥーシン (GNAT3)、ホスホリパーゼ C β 2 (PLC β 2)、や温度感受性 TRP チャンネルの TRPM5 といった味覚シグナル (味覚の細胞内情報伝達) に関与する分子の伝令 RNA がヒトの腸管に発現することが報告され、特に、刷子細胞 (タフト細胞) に発現すると考えられている。この腸管刷子細胞は、マウスにおいて、体重や脂肪蓄積の制御に関与している可能性も報告されている。本研究では、高度肥満患者において、これら味覚シグナル分子の発現レベルに変化が起きているのかどうかを明らかにすることを目的としている。外科治療 (バリアトリックサージェリー) により肥満症患者 (計 15 名のうち、4 名は BMI40 以下、6 名は BMI40-49、5 名は BMI50-59) から摘出された空腸の RNA を抽出し、RT-PCR を行い、各サンプルの濃度を一定量に調製後、PCR を行い、各バンドの輝度を測定した。その結果、BMI50-59 群では、PLC β 2、TRPM5 のバンドの輝度が他の群と比べて有意に低かった。一方、GNAT3 では、3 群間で有意差は認められなかった。まだプレリミナリーな結果ではあるが、肥満症患者の空腸において、一部の味覚情報伝達に関わる細胞内因子の発現に変化がある可能性が示された。また、味覚シグナルの調節不全が肥満症に関与している可能性も示唆された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。**P3-04 mRNA expression levels of taste-signaling molecules in jejunum of severe obese patients**○Yasuo T^{1,2}, Sako N¹, Ninomiya Y^{2,3}¹Dept Oral Physiol, Fac Dent, Asahi Univ; ²Monell Chem Senses Center, USA; ³R&D Center for Taste Odor Sensing, Kyushu Univ

Obesity is serious health problem. Many studies show that both taste stimulation and feedback from gastrointestinal tract contribute to energy intake regulation. Recent studies report that mRNAs of taste-signaling molecules such as GNAT3, PLC β 2, and TRPM5 are expressed in the human gut, especially, in tuft cells, which may regulate body weight and adiposity in mice. This study aimed to determine if taste-signaling is altered in patients with severe obesity. The mRNA expression levels of these molecules in the proximal discarded jejunum obtained from patients with obesity who underwent bariatric surgery and was examined using PCR. The intensity of the amplified bands was measured. Preliminary results of the initial 15 patients were analyzed including 4 with BMI < 40, 6 with BMI 40-49, and 5 with BMI 50-59. The intensity of the amplified PLC β 2 product from BMI 50-59 patients was lower than those with BMI < 50 and the intensity of TRPM5 bands from BMI 50-59 was lower than those with BMI < 40. The intensity of GNAT3 bands was similar across the three BMI groups. Our preliminary data suggest that taste-signaling elements may be altered in patients with severe obesity, and dysregulation of taste-signaling may participate in obesity.

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

P3-05 脂肪細胞表面受容体 GPRC6A の食事誘発性肥満における役割

○溝上 颯子¹, 大谷 崇仁², 松田 美穂³, 安河内 (川久保) 友世¹, 竹内 弘⁴,
自見 英治郎^{1,3}, 平田 雅人⁵

¹九大 院歯 OBT研究セ, ²福歯大 機能構造, ³九大 院歯 口腔細胞工学, ⁴九歯大 口腔応用薬理,
⁵福歯大 口腔医学研究セ

Gタンパク質共役型受容体の1つであるGPRC6Aは睥β細胞をはじめ、肝臓、骨格筋、脳、脂肪組織など全身に広く分布し、アミノ酸、細胞外Ca²⁺のほか、テストステロンやオステオカルシン(GluOC)などの多様な分子をリガンドとして認識する。GPRC6A欠損マウスは食餌誘発性肥満とそれに起因するインスリン抵抗性を来しやすく、GPRC6Aシグナリングのエネルギー代謝への関与が強く示唆されている。我々はこれまでに、3T3-L1脂肪細胞をGPRC6AのリガンドであるGluOCで刺激するとGPRC6Aを介して脂肪細胞への分化に中心的な役割を果たす転写因子PPAR γ の発現が亢進し、インスリン感受性増強作用をもつアディポネクチン分泌が促進されること、野生型マウスにGluOCを長期にわたって経口投与すると脂肪細胞が顕著に小型化することを明らかにしてきた。今回我々は、脂肪細胞におけるGPRC6Aシグナリングが全身の糖・脂質代謝改善における最も重要なターゲットであると位置づけ、成熟脂肪細胞特異的GPRC6Aノックアウトマウス(adG6AKO)を作製して解析した。adG6AKOを高脂肪高ショ糖食で飼育すると、対照群と比較して著しい脂肪細胞の肥大とそれに伴う脂肪組織重量の増加、肝臓への脂肪の蓄積、インスリン抵抗性による耐糖能の低下が認められた。adG6AKOの脂肪組織では、脂肪分解酵素群の転写を制御するFoxO1とその下流のリパーゼ、HSL、ATGLの発現量が低下していた。3T3-L1脂肪細胞をGPRC6Aのリガンドで刺激したところ、幾つかのリガンドの中で、GluOCとオルニチンだけがATGLの発現を上昇させた。以上のことから、脂肪組織における恒常的なGPRC6Aシグナルは脂肪分解を制御することで全身の脂肪量と全身のエネルギー代謝を調整し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。

P3-05 Adipose tissue-specific knockout of GPRC6A promotes diet-induced obesity by inhibiting lipolysis

○Mizokami A¹, Otani T², Matsuda M³, Kawakubo-Yasukochi T¹, Takeuchi H⁴, Jimi E^{1,3}, Hirata M⁵

¹OBT Res Center, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll; ³Sect Mol Cell Biochem, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ⁴Div Appl Pharmacol, Kyushu Dent Univ; ⁵Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll

The G protein-coupled receptor GPRC6A is broadly expressed in many tissues and regulates various physiological processes in response to its interaction with multiple ligands such as extracellular basic amino acids and the uncarboxylated osteocalcin (GluOC). Global deletion of GPRC6A increases the susceptibility to diet-induced obesity and related metabolic disorders in mice. However, due to the broad expression and multiligand specificity of GPRC6A, the underlying cellular and molecular mechanisms have remained unclear. Based on our previous observation that long-term oral administration of GluOC markedly reduced adipocyte size and improved glucose tolerance in wild-type mice, we analyzed adipocyte-specific GPRC6A knockout mice to examine whether adipose GPRC6A signaling could be responsible for prevention of metabolic disorders. We found that these animals manifested increased adipose tissue weight, adipocyte hypertrophy, and adipose tissue inflammation when fed a high-fat, high-sucrose diet. These effects were associated with reduced lipolytic activity due to down-regulation of lipolytic enzymes in adipose tissue. Among GPRC6A ligands tested, only GluOC and ornithine increased the expression of ATGL in cultured 3T3-L1 adipocyte. Our results suggest that the constitutive activation of GPRC6A signaling in adipocytes plays a key role in adipose lipid handling and the prevention of obesity and related metabolic disorders.

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

P3-08 CDK4/CyclinD1 は唾液腺の分枝形態形成を制御する

○五條 菜央¹, 井階 一樹², 皆木 瞳^{4,5}, 酒井 学³, 阪井 丘芳¹

¹阪大院歯顎治, ²阪大院歯顎治 特任研究員, ³阪大 歯病院 検査部, ⁴岡大院歯歯薬 細胞組織,
⁵日本学術振興会

【目的】細胞増殖は組織の発生過程に必要であり, Cyclin dependent kinase (CDK) の活性化によって制御されている. 唾液腺の発生では腺房上皮にクレフトが生じ, 繰り返し枝分かれすることにより分枝形態形成が行われる. この過程は上皮間葉間相互作用によって制御される. しかしながら, 上皮間葉間相互作用における CDK の役割は明らかにされていない. 我々は細胞周期を DNA 合成期へと誘導させる CDK4/CyclinD1 複合体に着目し, 胎仔唾液腺の分枝形態形成におけるその影響を検討した.

【方法】妊娠 12.5 日目のマウスから胎仔唾液腺を取り出し, CDK4/CyclinD1 タンパクとその働きを抑制する Ribociclib をそれぞれ添加し器官培養を行った. 培養 48 時間後, 形態的变化を評価するために唾液腺の大きさと腺房数の数を計測した. また, 細胞増殖を評価するために Ki67 の発現量を免疫組織染色で確認し, アポトーシスの評価のために TUNEL 染色を行った. さらに, Western blotting によって唾液腺のクレフト形成に関わることで知られている Fn の発現量を評価した.

【結果】CDK4/CyclinD1 タンパク添加群は Ribociclib 添加群, control 群と比較して唾液腺の大きさと腺房数が増加した. 一方, Ribociclib 添加群ではクレフト形成が抑制され, 唾液腺の大きさと腺房数が減少していた. Ki67 の発現量は CDK4/CyclinD1 タンパク添加群では増加していたが, Ribociclib 添加群では減少していた. 腺房上皮組織におけるアポトーシスは両群共に検出されなかった. Western blotting では, Fn の発現量が CDK4/CyclinD1 タンパク添加群では増加していたが, Ribociclib 添加群では減少していた.

【考察】これらの結果より, CDK4/CyclinD1 は Fn と Ki67 の発現を調整し, 分枝形態形成におけるクレフト形成を制御す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.

P3-08 CDK4/CyclinD1 control submandibular gland branching morphogenesis

○Gojo N¹, Ikai K², Minagi H^{4,5}, Sakai M³, Sakai T¹

¹Dept Oral-Facial Disord, Osaka Univ Grad Sch Dent; ²Specially appointed researcher, Dept Oral-Facial Disord, Osaka Univ Grad Sch Dent; ³Dept Clin Lab, Osaka Univ Dent Hosp; ⁴Dept Cytol Histol, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ⁵JSPS Research Fellow

Purpose: It is known that cell proliferation is necessary for the developmental process of tissues and it is regulated by activation of Cyclin dependent kinase (CDK). However, the effects of CDK have not been clarified in the development of salivary glands (SG). In this study, we focused on the CDK4/CyclinD1 complex, and examined its effect on branching morphogenesis of the fetal SG.

Materials and Method: We cultured embryonic day 12.5 SG with CDK4/CyclinD1 protein and Ribociclib, which inhibits the action of CDK4/CyclinD1. After 48 hours, we evaluated the morphological changes of SG. We analyzed cell proliferation and apoptosis by immunohistochemical staining. Furthermore, the expression level of Fibronectin (Fn) reported to be involved in cleft formation was confirmed by Western blotting (WB).

Results: In the CDK4/CyclinD1-added group, the number and size of SG were increased compared with the Ribociclib-added group. The expression level of Ki67 increased in the CDK4/CyclinD1-added group, and epithelial apoptosis was not detected in either group. In WB, the expression levels of Fn were increased in the CDK4/CyclinD1-added group, but they were decreased in the Ribociclib-added group.

Conclusion: These results suggest that CDK4/CyclinD1 may regulate Fn and Ki67 expression and regulate cleft formation in branching morphogenesis.

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

P3-09 ヒト骨髄由来幹細胞に対するブラジル産グリーンプロポリスのエタノール抽出液の作用

○新谷 耕平¹, 川木 晴美², 上野 恭平², 鶴田 はねみ³, 神谷 真子⁴, 池野 久美子⁵, 中村 源次郎⁵, 玉置 幸道¹, 堀田 正人⁶, 近藤 信夫²

¹朝日大 歯 理工, ²朝日大 歯 口腔生化, ³朝日大 歯 保存, ⁴朝日大 経営 化学, ⁵(株)秋田屋本店, ⁶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、様々な作用が報告されている。特に、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が知られている。本研究ではプロポリスに含まれる様々な化合物の作用に着目し、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、ヒト骨髄由来幹細胞(hBMSC)への作用を検討した。まず、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)で希釈した培地を用いてhBMSC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の接着と増殖、細胞外基質産生、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上ではhBMSCの良好な接着伸展を示し、hBMSCの増殖は1/250から1/300希釈液でコーティングしたプレートで増殖が促進した。以上の結果、hBMSCの増殖促進効果を示すプロポリス成分には至適濃度が存在し、歯科用薬剤として有望であることが示された。プロポリス抽出液は多くの化合物を含むことから有効成分を同定するための詳細な研究を現在進めている。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P3-09 Multiple effects of ethanol extract of Brazilian Green Propolis on the human bone marrow stem cells

○Shintani K¹, Kawaki H², Ueno K², Tsuruta H³, Kamiya M⁴, Ikeno K⁵, Nakamura G⁵, Tamaki Y¹, Hotta M⁶, Kondoh N²

¹Dept Dent Mater Sci, Fac Dent, Asahi Univ; ²Dept Oral Biochem, Fac Dent, Asahi Univ; ³Dept Endodont, Fac Dent, Asahi Univ; ⁴Chem Lab, Fac Business Admin, Asahi Univ; ⁵Akitaya Honten Co, Ltd; ⁶Asahi 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 multiple effects such as antibacterial and antitumor activities. Brazilian green propolis has been reported to suppress inflammation, malignancy and obesity. In this study, we focused on the multiple functions of the components in Brazilian Green Propolis, and evaluate the effects of propolis extract on the activities of the human bone marrow derived stem cells (hBMSCs) for the application of this extract to dental materials. As a result, propolis extract promoted the cell adhesion, proliferation, and alkaline phosphatase activity of hBMSCs. In the present study, we revealed that propolis extract is a promising dental agents, however further and more detailed studies, such as the identification of the compounds with useful effects, are required, and these studies are ongoing.

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

P3-10 イオン交換材を用いた改変型 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, 新谷 耕平³, 梅村 直己¹, 神谷 真子⁴, 高山 英次¹,
堀田 正人⁵, 二階堂 徹², 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 歯 理工, ⁴朝日大 経営 化学, ⁵朝日大

Surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) 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 フィラー抽出液 (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ると考えている。そのため、S-PRG フィラーから徐放される特定のイオン種の効果を検討するためには、徐放された複数のイオン種からある特性のイオンを選択的に除去することや、その含有量を調整し、細胞応答を確かめることが有効であると考えられる。そこで我々は、陽イオン交換能を有するゼオライトに着目し、S-PRG 抽出液中のイオンの改変を行った。本研究では、複数のイオン種が存在する S-PRG 抽出液から、 Sr^{2+} を選択的に除去した改変型 S-PRG 抽出液調製のためのイオン交換条件を確立し、その影響を評価した。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、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。しかし、ゼオライトの持つ陽イオン種やゼオライト骨格によって、イオン交換後に得られる抽出液の組成は変化し、F や B イオンの減少したサンプルもみられた。なかでも NaX 型ゼオライトは、S-PRG 抽出液中から Sr^{2+} のみを選択的に吸着除去することが可能であり、抽出液中へのゼオライト添加量およびイオン交換時間を変化させることにより、他の元素濃度を変化させることなく S-PRG 抽出液中の Sr 量を任意に制御できることが判明した。したがって、我々の研究は、複数のイオン種が存在する多成分系から特定のイオンを特異的に制御し、S-PRG 抽出液中の Sr^{2+} の作用および至適量に関する価値あるデータを提示し、歯科材料研究に貢献するものと考えている。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P3-10 Evaluation of modified S-PRG filler eluate using ion-exchanged materials

○Ueno K¹, Kawaki H¹, Tatsumi Y², Shintani K³, Umemura N¹, Kamiya M⁴, Takayama E¹, Hotta M⁵,
Nikaidoh T², Kondoh N¹

¹Dept Oral Biochem, Fac Dent, Asahi Univ; ²Dept Endodont, Fac Dent, Asahi Univ; ³Dept Dent Mater Sci, Fac Dent, Asahi Univ; ⁴Chem Lab, Fac Business Admin, Asahi Univ; ⁵Asahi 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 harbors releasing abilities for ions, including Na^+ , Sr^{2+} , Al^{3+} , F^- , SiO_3^{2-} , and BO_3^{3-} . We have reported that the S-PRG filler eluate containing the multiple ions promoted the hDPSC proliferation in 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, modified S-PRG eluate with controlled Sr^{2+} content was prepared by ion-exchange using zeolite pellets. The NaX-type zeolite was able to selectively control the amount of Sr^{2+} in the eluate without changing the other elements. Our unique technique to withhold specific components from ionized material could further contribute for research of dental materials.

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

P3-11 骨ハイドロキシアパタイト結晶とセリア系ジルコニアがもたらすナノスケールオッセオインテグレーション

○齊藤 まり, 山本 竜司, 山越 康雄

鶴大 歯 生化学

【目的】 チタンによる歯科インプラントの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, その周囲にカルシウム塩化合物の析出を誘導することを見出し, 新規歯科インプラント材としての有用性を報告した. 本研究において我々は, 歯科インプラントとして必須のオッセオインテグレーション能に着目し, Ce-TZP/Al₂O₃—骨ハイドロキシアパタイト (HAP) 界面構造を調査した.

【方法】 骨芽細胞によって Ce-TZP/Al₂O₃ 周囲に析出したカルシウム塩化合物を含む界面構造観察と, カルシウム塩のナノレベル物性評価を行った. X線回折, 走査および透過電子顕微鏡, 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にて測定した.

【結果および考察】 測定および観察により, Ce-TZP/Al₂O₃ 周囲へ析出したカルシウム塩化合物が HAP 結晶単相であり, 骨に含まれる HAP に類似することが判明した. 結晶群の平均カルシウム/リン比は 1.40 である. また, 透過電子顕微鏡にて Ce-TZP/Al₂O₃—骨ハイドロキシアパタイト (HAP) 界面構造を観察し, 酸化ジルコニウム結晶と HAP 結晶が結晶格子レベルで直接結合していることが判明した. 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 HAP の析出は必須条件である. 上記の結果は, Ce-TZP/Al₂O₃ が生体内においてその周囲に骨 HAP 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示唆する.

【結論】 Ce-TZP/Al₂O₃ はその周囲に骨ハイドロキシアパタイト結晶を誘導し, 両者はナノレベルで直接結合する.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P3-11 Osseointegration between ceria-stabilized zirconia and bone hydroxyapatite crystal at nanoscale

○Saito MM, Yamamoto R, Yamakoshi Y

Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

Purpose: Osseointegration is an essential process for successful dental implant treatment. We previously reported that a ceria-stabilized tetragonal zirconia polycrystals/aluminum oxide (Ce-TZP/Al₂O₃) induces calcium salts around it, suggesting osseointegration possibility as a novel dental implant. In this study, we investigated osseointegration mechanism of Ce-TZP/Al₂O₃ due to observing interface structure of Ce-TZP/Al₂O₃ and calcium salt precipitates.

Materials & Methods: Osteoblastic cells were cultured on the Ce-TZP/Al₂O₃ substrate to precipitate calcium salts *in vitro*. We observed the interface structure and characterized the calcium salts at nanoscale using transmission electron microscopy (TEM).

Results & Discussion: The calcium salts precipitated around the Ce-TZP/Al₂O₃ resembled bone hydroxyapatite (HAP). High-resolution TEM observations showed that the precipitates consisted of HAP 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 bone HAP crystals precipitate around the implant fixture. We concluded that the Ce-TZP/Al₂O₃ directly bonded to the hydroxyapatite crystals in the precipitates at nanoscale. Therefore, our findings suggest that the Ce-TZP/Al₂O₃ would show high biocompatibility and rigid osseointegration *in vivo*.

Conclusion: The Ce-TZP/Al₂O₃ directly bonds to the bone hydroxyapatite crystals at nanoscale.

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

P3-13 顕微フーリエ変換赤外分光法によるヒトエナメル質結晶脱灰時の経時的変化○渡辺 新¹, 河野 哲朗¹, 戸田 みゆき², 玉村 亮¹, 寒河江 登志朗¹, 岡田 裕之¹¹日大 松戸歯 組織, ²日大 院松戸歯

本研究は、う蝕の成り立ちを解明し、その原因が様々な歯において共通か否かを明らかにするために、炭酸飲料に浸したヒト歯の切片を顕微フーリエ変換赤外分光法（micro-FTIR）にて分析した。ヒト第三大臼歯を0.5 mmの厚さに切断し、実験群は炭酸飲料水に、対照群は生理食塩水に1日および7日間浸漬した。これらを脱灰程度が弱いもの（A）と、強いもの（B）とに分類した後、micro-FTIRを用いて分析を行い、典型的なパターンを示したサンプルについて報告する。測定は両サンプルのエナメル質外層と内層とで行った。その結果、サンプルAとBにおいて、エナメル質外層のP-Oによる吸収バンドは劇的な変化を示したが、エナメル質内層ではほとんど不変のままであった。これは、侵食過程で主にエナメル質外層のアパタイト結晶構造におけるリン酸イオンを変化させたと為と考えられる。更に、顕微フーリエ変換赤外分光法の二次微分曲線において、サンプルBの7dのエナメル質内層のパターンに、P-Oによる吸収バンドを示した。この結果から、エナメル質アパタイトは個々で物理化学的特徴に差があることが示唆された。本研究では2つの極端なケースを提示したが、明らかに個人とエナメル質の部位に特徴的な違いがあり、これは、エナメル質の多様性を示していると考えられる。また、分析対象の吸収バンドが弱かったため、C-Oの吸収バンドは特定できなかったが、今後、より正確な分解能を有するFTIRを用いて、C-Oの吸収バンドを分析していく必要があると考えられた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。**P3-13 Temporal change of human enamel crystal demineralization by micro-FTIR method**○Watanabe A¹, Kono T¹, Toda M², Tamamura R¹, Sakae T¹, Okada H¹¹Dept Histol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo; ²Nihon Univ Grad Sch Dent Matsudo

This study was carried out to clarify the chemical processes of dental caries in detail, and to clarify whether the caries processes are common through the whole part of various teeth. Human third molars were cut to a thickness of 0.5 mm and immersed in carbonated drinking water for the experimental group and physiological saline for the control group for 1 and 7 days. Among them, one lightly dissolved sample (A) and one heavily dissolved sample (B) were picked up and described. The measurements were performed on the outer and inner layers of enamel of both samples. As a result, the micro-FTIR spectroscopy showed the drastic changes in the P-O absorption bands of the outer layer enamel of both samples, while those of the inner layer enamel remained almost unalterably. This result indicated that the erosive processes mainly attacked the phosphate ion environments in the biological apatite crystal structure of tooth enamel. The second order differential curves of the micro-FTIR patterns firstly reported here showed the small but significant P-O band peak shifts among the all analyzing points except for 7d of Sample B, suggesting the individual physicochemical characteristic of tooth enamel apatite.

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

P3-14 マウス歯髄組織の発生・再生治癒過程におけるコンドロイチン硫酸の機能発現

○依田 浩子, 大島 勇人

新潟大 院医歯 硬組織形態

【目的】コンドロイチン硫酸プロテオグリカン (CSPG) は主要な細胞外基質の一つで、とくに神経および血管組織の発育制御に重要な役割を果たしている。本研究ではマウス歯髄組織の発生・再生治癒におけるCS鎖の役割を解明する目的で、CS合成酵素であるChondroitin sulfate N-acethylgalactosaminyltransferase-1 (T1) の遺伝子ノックアウト (KO) マウスを用いて歯の再植実験を行い、歯髄組織の発生・再生治癒過程を正常マウスと比較検討した。

【方法】胎生13日齢から生後4週齢までの正常およびT1KOマウスを4%PFAにて灌流固定後、頭部組織のパラフィン切片を作成し免疫組織染色を行った。さらに生後3週齢の上顎第一臼歯に再植実験を施し、術後3日から14日まで歯髄治癒過程を経時的に観察した。また、T1KOマウス臼歯の歯髄初代培養細胞を用いてCS有無による細胞増殖および遺伝子発現変化を解析した。

【結果と考察】歯髄発育過程では、CSは歯乳頭組織全体にびまん性に局在したが、象牙芽細胞分化および歯髄組織の成熟に伴いCSは消失し、完成歯ではCS陽性部は歯根尖部のPGP9.5陽性神経組織周囲に限局していた。歯髄再生過程では、再植3日後では歯根部歯髄のCD31陽性血管内皮細胞の増生部の周囲基質がCS強陽性であり、7日後までは歯髄組織全体がCS陽性を示したが、14日後の歯髄再生治癒が進行した歯髄組織では完成歯と同様に歯根尖部に限局した。T1KOマウスでは、歯髄再生初期で細胞増殖およびGli-1陽性細胞が有意に減少していた。さらに、T1KO歯髄培養細胞はMTT assayにてCS存在下で細胞増殖が促進される傾向を示した。以上より、CSは歯髄組織の成熟過程において歯髄細胞の増殖および神経・血管構築に関与している可能性が示唆された。

【会員外共同研究者】愛知医科大 武内恒成

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P3-14 Functional expression of chondroitin sulfate in the developmental and regeneration healing process of dental pulp tissue in mice

○Ida-Yonemochi H, Ohshima H

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

Chondroitin sulfate proteoglycan (CSPG) is one of major extracellular matrices and plays an important part in neurogenesis and angiogenesis. To elucidate the role of CS in the development and regeneration of dental pulp, we performed experimental tooth replantation in CS N-acethylgalactosaminyltransferase-1 (T1) gene knockout (KO) mice. We also performed cell proliferation assay for primary dental pulp cells of T1KO molars. During tooth development, CS was diffusely expressed in the dental papilla, and with maturation of dental pulp, CS disappeared from the differentiated areas including odontoblasts. In the fully developed molar, CS restricted to the root apex region colocalizing with PGP9.5-positive nerve tissues. In the regeneration process after tooth replantation, CD31-positive cells accumulated in the CS-positive stroma in WT molars. In T1KO molars, the appearance of Ki67- and Gli-1-positive cells in the dental pulp was significantly fewer than that of in WT molars in the early regeneration stage. In the MTT assay for T1KO dental pulp cells, cell proliferation promoted by external CS. These results suggest that CS chain might be involved in the cell proliferation and construction of nerve and blood vessel in the maturation process of dental pulp tissue.

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

P3-15 成熟期エナメル芽細胞における LPA シグナルの機能的役割の解明○稲葉 陽^{1,2}, 大津 圭史¹, 池崎 晶二郎¹, 荒井 春乃^{1,2}, 森川 和政², 原田 英光¹¹岩医大 院歯 口腔組織, ²岩医大 院歯 小児・障害者

低石灰化を呈する遺伝性エナメル質形成不全症は、成熟期エナメル芽細胞の機能低下によって引き起こされるが、その病因は未だ不明な点が多い。それは、分泌期エナメル芽細胞に比べ、成熟期でのエナメル芽細胞の特性について十分に理解されていない点にあると考える。その中で、リゾリン脂質性メディエーターは、組織・細胞特異的に発現する受容体 (LPAR1-6) を介して様々な生理的機能を有するが、成熟期エナメル芽細胞の近・遠心端に LPAR6 の強い発現が観察されたことから、LPA シグナルが成熟期エナメル芽細胞を制御するとの仮説を立て、その機能解析を行った。LPA6 遺伝子欠損マウスを解析した結果、成熟期エナメル芽細胞において一部嚢胞様構造が観察された。免疫組織学的解析から、これらの細胞において RhoA の活性化型の減少や E-cadherin (E-cad), Zo-1 などの細胞間接着タンパクの発現低下を認めた。次に、培養エナメル芽細胞において siRNA を用いて LPAR6 をノックダウンしたところ、活性化型 RhoA, E-cad, 重合アクチン (F-actin), リン酸化型ミオシン軽鎖 (pMLC), Na⁺/K⁺/Ca²⁺ 交換体 4 (SLC24A4) の発現が抑制された。一方、培養液中への LPA 添加により、活性化型 RhoA が増加し、E-cad, F-actin, pMLC の発現の上昇、および細胞膜への局在が誘導された。これらの結果は、ドミナントネガティブ RhoA を用いた Rho シグナルの機能不全マウスの解析や Rho キナーゼ抑制剤を用いた機能抑制実験の結果と一致することから、LPA-LPA6 シグナルは、RhoA を介して成熟期エナメル芽細胞の細胞間接着や細胞骨格・極性を制御している重要なシグナル系であることが考えられた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。**P3-15 Elucidation of the functional role in maturation stage ameloblasts**○Inaba A^{1,2}, Otsu K¹, Ikezaki S¹, Arai H^{1,2}, Morikawa K², Harada H¹¹Div Anat, Grad Sch Dent, Iwate Med Univ; ²Div Pediatr Dent, Grad Sch Dent, Iwate Med Univ

Hypo-mineralization type amelogenesis imperfecta (AI) is a heterogeneous group of genetic conditions characterized by the defects of enamel mineralization. It attributes to be a dysfunction of maturation stage ameloblasts (MSAs), but its pathogenesis remains unclear. Therefore, Elucidating the regulatory mechanism and function of MSAs is critical for the understanding of the etiology of hypo-mineralization type AI. Lysophosphatidic acid (LPA) synthesized from phospholipids, has various physiological functions through its receptors (LPARs). Because LPAR6 was strongly expressed at the distal and proximal end of MSAs, in this study we studied on the function of the LPA-LPAR6 signal in MSAs. First, in LPAR6 knock out mice, the MSAs lost the cellular polarity and formed cyst-like structure, and decreased expression of activated RhoA, E-cadherin and Zo-1. Further, knocking down of LPAR6 in the cultured ameloblasts decreased the expression of active RhoA, E-cadherin, F-actin and phosphorylated myosin light chain (pMLC). In contrast, administration of LPA induced the expression of active RhoA, E-cadherin, F-actin and p-MLC at the cell membrane. Together, these results indicated that LPA-LPA6 signal regulates cell-cell adhesion, cytoskeleton and cellular polarity through Rho signal in MSAs.

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

P3-16 Shikonin は CD44 存在下で AKT-mTOR を介して歯髄幹細胞を象牙芽細胞へと分化誘導する

梶浦 久仁洋¹, ○梅村 直己², 上野 恭平², 川木 晴美², 高山 英次², 河野 哲¹, 近藤 信夫²

¹朝日大 歯 歯内療法, ²朝日大 歯 口腔生化

【目的】我々の先行研究にてヒアルロン酸は dental pulp stem cell の CD44 を介して象牙芽細胞分化誘導を示すことを明らかにしたが, CD44 の発現が普遍的に象牙芽細胞分化誘導に重要であるのか明らかになっていない. そこで我々はヒアルロン酸とは薬理機能的に関係がなく, 歯髄幹細胞を象牙芽細胞へと分化誘導する試薬を探索し, その試薬による象牙芽細胞分化誘導に CD44 が関与しているのかを検証する.

【方法】我々はビタミン K 群には骨の形成促進や組織の石灰化に作用するものを含むことから, ビタミン K の基本骨格であるナフトキノンを誘導体を中心に, 歯髄幹細胞の象牙芽細胞様分化誘導に関与する化合物があるのか探索した. その中で DPSCs 象牙芽細胞分化誘導メカニズムの詳細を検証した.

【結果】我々の探索から shikonin を DPSCs に処置することにより, 象牙芽細胞のマーカーである dentin sialophosphoprotein (DSPP) が発現されることがわかった. またその DSPP の発現は PI3K inhibitor, AKT inhibitor, mTOR inhibitor により抑制された. また CD44 をノックダウンした DPSCs では shikonin による DSPP の発現が抑制された.

【考察】Shikonin には歯髄幹細胞を象牙芽細胞へと分化誘導する機能があり, その分化誘導には AKT-mTOR シグナル伝達と, CD44 が関与していることを明らかにした. 以前の研究で hyaluronan は CD44 を介して象牙芽細胞分化誘導することを明らかにしていることから, 歯髄幹細胞の象牙芽細胞分化誘導には CD44 が重要であ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.

P3-16 Shikonin induces odontoblastic differentiation of dental pulp stem cells via AKT-mTOR signaling in the presence of CD44

Kajiura K¹, ○Umemura N², Ueno K², Kawaki H², Takayama E², Kawano S¹, Kondoh N²

¹Dept Endodont, Fac Dent, Asahi Univ; ²Dept Oral Biochem, Fac Dent, Asahi Univ

Background: In our previous study, we demonstrated that hyaluronan induces odontoblastic differentiation of dental pulp stem cells via interactions with CD44. However, it remains unclear whether CD44 expression by dental pulp stem cells is required for odontoblastic differentiation.

Methods: We searched for a compound that induces odontoblastic differentiation of dental pulp stem cells, regardless of the chemical structure and function of hyaluronan, and examined whether CD44 is involved in the induction of odontoblastic differentiation by the compound by western blotting. We further validated the cell signaling the detail of the compound-induced expression of dentin sialophosphoprotein (DSPP) which is known as a marker of odontoblasts.

Results: We found that the shikonin which is include derivatives of naphthoquinone, the skeleton of vitamin K. The shikonin-induced expression of DSPP was inhibited by PI3K, AKT, and mTOR inhibitors. In addition, in dental pulp stem cells transfected with siRNA against CD44, the shikonin-induced expression of dentin sialophosphoprotein was inhibited.

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

P3-17 多根歯形成過程における Hertwig 上皮鞘の三次元的成長に関する研究○菊池 布恵¹, 北村 啓¹, 笠原 典夫¹, 小川 雄大¹, 石川 昂², 山本 将仁³, 阿部 伸一³, 山本 仁¹¹東歯大 組織発生, ²東歯大 法歯人類, ³東歯大 解剖

歯根の形態は Hertwig 上皮鞘の成長方向により決定すると考えられている。咀嚼時に重要な役割を果たす臼歯部では多根歯を示すが、多根歯の形成には Hertwig 上皮鞘が伸長してできる上皮性根間突起が中心的な役割を担っている。しかし Hertwig 上皮鞘が上皮性根間突起を形成する過程と機序については不明である。そこで多根歯形成過程における上皮性根間突起の動態を明らかにするため、ヒトと同じく髓下葉を形成するラットを用いて上皮性根間突起の成長と多根歯の形成過程を三次元的に観察した。生後3～18日齢の Wistar ラット各2匹を材料とし、上顎第二臼歯の多根形成過程を観察した。4%パラフォルムアルデヒド溶液による灌流固定後、上顎を摘出し浸漬固定を行い、KCXで脱灰後、通法に従ってパラフィン包埋し、厚さ5μmの前頭断連続切片を作製した。すべての切片をH-E染色し、40倍で光学顕微鏡写真を撮影した。画像はImage J (NIH)による二値化処理後、ITKsnapに単色で取込み、5枚おきに Hertwig 上皮鞘、上皮性根間突起、象牙質根間突起および髓下葉を描出して立体構築を行った。生後3日に Hertwig 上皮鞘は歯頸部から歯乳頭内部上方に向けて伸長し、上皮性根間突起の形成を開始した。上皮性根間突起は4本形成され、それぞれは日齢と共に伸長するが、その成長速度には差があった。生後11日には成長した上皮性根間突起は歯乳頭中央部で互いに癒合したが、この間、上皮性根間突起の根尖側への成長は認めなかった。生後18日では上皮性根間突起は根尖部に向かって伸長し、一部は断裂して Malassez の上皮遺残を形成していた。以上の結果から Hertwig 上皮鞘から形成された上皮性根間突起は互いに癒合するまでの間、根尖部への成長を停止していることと、上皮性根間突起の成長速度には部位的な相違があることが示唆された。本研究は JSPS 科研費 JP17K11629 の助成を受けたものです。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。**P3-17 Studies on the development of Hertwig's epithelial root sheath by 3 dimensional construction during multirooted tooth formation**○Kikuchi N¹, Kitamura K¹, Kasahara N¹, Ogawa Y¹, Ishikawa N², Yamamoto M³, Abe S³, Yamamoto H¹¹Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll; ²Dept Forensic Odontol Anthropol, Tokyo Dent Coll; ³Dept Anat, Tokyo Dent Coll

Molars which play important roles for mastication have multiple roots and epithelial projection (EP) formed by development of HERS is essential for formation of those. However, process and mechanism to become EP from HERS are unclear. Thus, due to investigate dynamics about EP, the development of these in multirooted tooth was observed three dimensionally by using rats appeared subpulpal lobes like human. After decalcification, paraffin-embedded maxillary second molars from Wistar rats during postnatal day (PN3-18) sliced at frontal serial sections (5μm thickness). After HE staining, specimens were taken photographs under a light microscope. HERS, EP, dentin projection and subpulpal lobes were extracted from images binarized and reconstructed by ITKsnap. HERS elongated upward in the center of the dental papilla from cervical line and started forming EP at PND3. Four EP were formed at respective speed and developed with age. Prolongation downward of EP was not observed while EP fused each other. Our data suggested that EP may pause growing downward until these contacted with each other and growth rate of EP may vary according to each EP.

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

P3-18 歯の支持様式における槽生の検討：モササウルス類化石を例にして○三島 弘幸¹, 千葉 敏江², 見明 康雄³¹鶴大 歯 歯科理工, ²鶴大 歯 電顕室, ³鶴大 歯 解剖 I

歯の支持様式において、従来ワニや哺乳類のみが歯槽が存在するとされていた。近年恐竜やモササウルス類を含めた Archosaurus は歯槽が存在するとの報告がでてきた (Bertin et al., 2018; Caldwell et al., 2003; Liu et al., 2016)。モササウルス類の歯は槽生性結合であるとの報告がなされているが、歯や歯周組織に関する組織学的な詳細な研究は少ない。本研究では、組織学的手法でモササウルス類 Mosasauridae 化石における歯と顎骨との支持様式を解析することを目的とした。また歯の組織構造についても検討することを目的とした。材料はモササウルス類3種化石(白亜紀, 海生爬虫類, モロッコ産)を用いた。試料は実体顕微鏡, デジタルマイクロスコープ, SEM, SEM-EDS, X線 μ CTなどを用いて、歯の内部構造や顎骨と歯の支持様式について解析を行った。モササウルス類化石に原始的な歯槽(sub-thecodont)が存在した。モササウルス類では歯の象牙質に周期の異なる成長線が観察された。Gren & Lindgren (2013)の報告によると、象牙質の成長線の日周期間隔は6~34 μ mであるとされている。今回の研究では、観察された成長線の周期は月齢周期(28日周期), 季節的周期及び年周期の3種の周期と考察した。モササウルス類の象牙質の成長線の周期は哺乳類と異なり不規則であった。モササウルス類はワニ類と異なり、厚いセメント質が存在し、歯根膜が存在せず、顎骨と骨性結合していた。セメント質には、現生のワニ類や哺乳類のセメント質と異なり、血管孔が存在していた。今回の研究から歯槽は海生爬虫類モササウルス類にも存在し、槽生性結合の起源は白亜紀あるいはそれ以前に存在していた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。

P3-18 Examination of thecodont in the tooth supporting mode: a case of fossils of mosasaurus○Mishima H¹, Chiba T², Miake Y³¹Dept Dent Eng, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Res Center Electr Microsc, Sch Dent Med, Tsurumi Univ;³Dept Oral Anat, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

It has been conventionally reported that only Mammalia and Crocodylia have the socket. Archosaurus, including dinosaurs and mosasaurus, have been reported to have the socket (Bertin et al., 2018; Caldwell et al., 2003; Liu et al., 2016). The purpose of this study is to analyze the attachment mode relationship between the tooth and the jawbone in the mosasaurus fossils. The material was some fossil of three mosasaurus species of Mosasauridae (marine squamate, Cretaceous, Morocco). The specimens were observed and analyzed using stereoscopic microscopy, digital microscopy, SEM, SEM-EDS, EPMA, and X-ray μ CT. Some different cycles of the incremental lines in the mosasaurus were observed in the dentin of teeth. Gren & Lindgren (2013) reported that the cycle of daily incremental lines in dentin was 6-34 μ m. The cycles of incremental lines were considered to be the lunar cycle (28-day cycle), seasonal cycle, and annual cycle in this research. Unlike Crocodylia, it had the thick cementum and no periodontal ligament and was the ankylosis with the jawbone in Mosasauridae. The vascular pores were present in the cementum of Mosasauridae. It is suggested that the origin of gomphosis may have existed from the Cretaceous or earlier.

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

P3-19 炭酸アパタイト系人工骨移植後の歯槽骨形成と微小循環

○松尾 まりあ, 東 雅啓, 松尾 雅斗

神歯大 院歯 口腔科学

失われた歯槽骨を再生する手段として各種移植材料が用いられている。炭酸アパタイト (CO3Ap) 顆粒は、再生の足場として働くと共に、他家骨や異種骨のような感染症の危険が少ない安全な骨再生材料の一つである。近年、骨形成と血管新生の関連性が注目されているが、本研究では、組織切片による光学顕微鏡に加えて走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて骨と血管の関係を立体的に観察した。本研究は全身麻酔下においてビーグル犬 6 頭を用いて行った (神奈川県獣医学動物実験倫理委員会承認番号 16-046 号)。両側上下前臼歯を抜去し、片側を実験群とし抜歯窩中に CO3Ap 顆粒 (0.3-0.6 mm, Cytrans granules, GC) を密に充填した。反対側は抜歯のみを行い対照群とした。術後 14, 30, 90 日に HE 染色組織標本を作製した。また、下歯槽動脈より血管注入用合成樹脂を注入した血管鋳型標本を作製し実体顕微鏡と走査型電子顕微鏡で観察した。術後 14 日、既存歯槽骨骨髄から伸展した新生血管が CO3Ap 顆粒間のスペースに分布していた。骨添加は骨壁に沿って幼若骨が観察された。術後 30 日、顆粒間空隙の骨添加は進行し抜歯窩内は多孔性の骨で充たされていた。術後 90 日、抜歯窩内は顆粒を含む緻密で成熟した骨に覆われていた。骨梁再生にともない形成された骨髄内に血管網が形成されていた。以上の結果から CO3Ap 顆粒周囲に新生血管が分布することで骨形成が促進されることが示唆された。また、骨添加部や顆粒周囲に新生血管が存在することから骨形成には微小循環が関わっていると考えられた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P3-19 Microvascular changes after the application of carbonate apatite granule graft

○Matsuo M, To M, Matsuo M

Dept Oral Sci, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ

Carbonate apatite (CO3Ap) granules are one of the materials for alveolar bone regeneration. We used the microvascular resin cast technique, which involves injecting low-viscosity synthetic resin into blood vessels, to investigate the relationship of the vascular network and bone. Beagle dogs were used in this study. The right mandibular premolar tooth sockets were filled with CO3Ap granules (Cytrans granules, GC, Japan), and the gingival flap was sutured. Resin was injected on 14, 30, and 90 postsurgery days. A no-bone graft was prepared on the left side. Synthetic resin was injected using the inferior alveolar arteries. Microvascular resin specimens were examined by SEM. On 14 days after, the CO3Ap granules filled the extraction sockets. Newly formed blood vessels from the pre-existing bone marrow penetrated the spaces between the granules in the socket. On 30 days after, the granular spaces were filled with newly formed bone. On 90 days after, the bone structure had regenerated, and thick blood vessels formed a network around the granules. These results showed that CO3Ap granules promoted early-stage bone formation by enhancing angiogenesis. The granules were later replaced with normal bone. These findings suggest that CO3Ap granules are suitable for use in bone regeneration.

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

P3-20 歯根嚢胞発症モデルマウスの作製○池崎 晶二郎¹, 熊上(坂野) 深香¹, 東根 まりい², 大津 圭史¹, 原田 英光¹¹岩医大 歯 発生生物, ²岩医大 歯 口外

歯根嚢胞は、慢性根尖性歯周炎に起因する炎症性病変に継発して形成された歯原性嚢胞であり、その上皮の由来はヘルトビッチ上皮鞘 (HERS) あるいはマラッセ残存上皮 (ERM) によると考えられている。しかしながら、その嚢胞形成のメカニズムについては十分に解明されておらず、そのため予防や治療に用いる薬剤はない。我々は、以前エナメル上皮において、Rho シグナルが細胞間の接着や極性の維持、分泌タンパクの誘導、上皮間葉転換の抑制などの役割を果たしていることを明らかにし、その機能低下によって嚢胞様構造物が形成されることを示した。そこで本研究は、HERS 細胞や ERM 細胞の Rho シグナルの低下が歯根嚢胞の発症機序の一因であるという仮説を立て、発症機序の解析方法としての歯根嚢胞発症モデルマウスの作製を立案した。タモキシフェン誘導型上皮特異的ドミナントネガティブ RhoA 発現マウスを作製後、歯根成長時期 (生後 10 日後) にタモキシフェンを注入して上皮細胞特異的に Rho シグナルを低下させ、嚢胞様構造物を発症させることに成功した。このマウスが歯根嚢胞発症のモデルマウスになると考え、HERS や ERM 細胞の動態や形成された嚢胞様構造物の裏打ち上皮と HERS や ERM との関係について検討した。その結果、HERS の長さがコントロールに比べて短くなると同時に歯根の成長もまた抑制されていた。さらに通常観察される歯根膜中のケラチン陽性 ERM もまた消失していた。一方、嚢胞様構造物の周囲には、HERS のシート状構造が乱れ、ケラチン陽性の上皮細胞が散在していた。以上のことから、Rho シグナルの低下による HERS や ERM 細胞の細胞極性の喪失や遊走性の獲得が嚢胞形成の一要因になっていると推測した。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。**P3-20 Production of radicular cysts model mouse**○Ikezaki S¹, Sakano-Kumakami M¹, Azumane M², Otsu K¹, Harada H¹¹Div Dev Bio Reg Med, Sch Dent, Iwate Med Univ; ²Div Oral Maxillofac Reg, Sch Dent, Iwate Med Univ

Radicular cysts are odontogenic cysts derived from Hertwig's epithelial sheath (HERS) or epithelial cells of Malassez (ERM), which are caused as a consequence of chronic inflammatory lesions around a tooth. Previously, we found that loss of cellular polarity lead to the formation of cyst like structure, in vitro. Accordingly, in this study, in order to analyze the developmental process of odontogenic cysts, we attempted a production of radicular cysts model mouse using tamoxifen-inducible epithelial specific dominant-negative mice. We carried out the injection of tamoxifen at the tooth root developmental stage of the mice, and histologically observed the cell behavior and morphological change of HERS and ERM. The mice exhibited the shortened HERS compared with the control, and the disappearance of CK14 positive ERM in the periodontal ligament. Additionally, the cyst like structure were formed by non-polarized CK14 positive cells. Taken together, the results suggested that the occurrence of cysts is closely associated with down-regulation of Rho signal of HERS and ERM cells.

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

P3-21 アーティチョーク由来のシナロピクリンは *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を抑制する

○横江 将¹, 渡辺 典久¹, 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効果を示した。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。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P3-21 Cynaropicrin suppresses LPS-induced production of inflammatory cytokines and RANKL-induced osteoclast differentiation

○Yokoe S¹, Watanabe N¹, Sato S¹, Imai K²

¹Dept Periodontol, Nihon Univ Sch Dent; 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 author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

P3-22 持続的伸展刺激負荷は歯根膜線維芽細胞が産生するエクソソーム中 miRNA 構成を変えて骨芽細胞分化を促進する

○和田 悟史, 菅崎 弘幸, 友成 博

鶴大 歯 矯正

【目的】 エクソソームは microRNA (miRNA) などを内包し, 細胞間情報伝達因子として機能する。矯正学的歯の移動では牽引側歯槽骨で骨形成が生じるが, この骨形成促進にエクソソームがどのような機能を果たすかは不明である。本研究は持続的伸展刺激を負荷した歯根膜線維芽細胞の分泌するエクソソーム中の miRNA プロファイルや, 分泌エクソソームの骨芽細胞分化促進能について検証した。

【試料および方法】 不死化ヒト歯根膜線維芽細胞株 (HPL) に持続的伸展刺激 (15%) を負荷したものを実験群, 無刺激の細胞を対照群とし, 培養上清回収後, エクソソームを精製した。次にエクソソーム産生量の比較のために, エクソソームエンベロープに対する抗 CD 9 抗体を用いて Western blotting を行った。さらにエクソソーム中の miRNA プロファイルについてマイクロアレイ解析を行った。また, 精製エクソソームをヒト骨肉腫細胞株 MG-63 培養系に添加し, 骨芽細胞分化マーカーの発現を Real-time RT-PCR により解析を行った。

【結果および考察】 Western blotting で, 対照群および実験群の精製エクソソームサンプル間で CD9 バンドに差がなかったことから, 両群のエクソソーム産生量に差は認められなかった。また miRNA マイクロアレイ解析で, 両群間で発現プロファイルが異なっており, 実験群で miR-4741 などの発現が増加していた。Real-time RT-PCR で, 実験群のエクソソームを添加した MG-63 で骨芽細胞分化マーカーの発現が増加した。以上より持続的伸展刺激を受けた歯根膜線維芽細胞がエクソソーム中の miRNA 発現を変化させ, 遠隔的に骨芽細胞分化を促進することが示唆された。

【結論】 持続的伸展刺激は歯根膜線維芽細胞のエクソソーム中の miRNA 構成を変えて, 骨芽細胞分化を促進す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。

P3-22 Tensile strain changes the component of microRNA in exosomes produced by periodontal ligament fibroblasts and enhances the osteoblastic differentiation

○Wada S, Kanzaki H, Tomonari H

Dept Orthodont, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

Exosomes contain microRNA (miRNA) and have been shown to function in an inter-cellular communication. However, it is unclear whether exosomes produced by periodontal ligament fibroblasts (PDL) affect bone remodeling in orthodontic tooth movement. In this study, we investigated miRNA expression profiles in exosomes produced by PDL under tensile strain, and the effect of secreted exosomes on osteoblast differentiation. Human immortalized PDL cell lines (HPL) were subjected to continuous tensile strain (15%-elongation) and exosomes were purified from the culture supernatant. The purified exosomes were subjected to Western blotting using an anti-CD9 antibody, and the miRNA expression profiles in these exosomes were analyzed using a human miRNA microarray. Furthermore, these exosomes were added to the human osteosarcoma, MG-63, cell culture, and the expression of osteoblast differentiation markers were analyzed by Real-time RT-PCR. The amount of exosomes secreted by tensile strain was similar to those of control. miRNA profiles were different between the two groups, and some miRNAs such as miR-4741 were upregulated by tensile strain. Furthermore, the expression of osteoblast differentiation markers in MG-63 were increased by exosomes produced by PDL under tensile strain. These results suggested that tensile strain to PDL modulates exosome composition and that promotes osteoblast differentiation.

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

P3-23 歯の萌出および接合上皮形成過程における細胞動態および組織学的変化についての解析

○藤川 芳織, 福島 美和子, 中村 雅典

昭大 歯 口腔解剖

【目的】歯の萌出過程では退縮（縮合）エナメル上皮と口腔上皮が癒合し、退縮エナメル上皮由来の細胞が接合上皮になると考えられている。しかし、接合上皮の由来となる細胞やその形成機序は未だ議論の余地がある。本研究では、接合上皮形成過程解明の一端として、歯の萌出経路における細胞動態および組織学的変化を検討した。

【方法】生後（P）7-21日齢BALB/cマウスの下顎骨を採取し、通法に従いパラフィンおよび凍結包埋切片を作成した。リアルタイムPCRおよび免疫蛍光染色によって炎症細胞や関連分子の発現および局在を検索した。

【結果】歯肉における炎症性サイトカインの発現を解析した結果、P7からP15にかけてIL-1 β およびHIF-1 α の発現が著しく上昇した。また、歯肉における炎症細胞の局在を検索した結果、P7ではGr-1陽性細胞はほとんど認められないが、P12および萌出が開始したP15の咬頭周辺の結合組織内にはGr-1陽性細胞の集積が認められた。歯肉におけるF4/80陽性細胞は、P7から萌出開始時期まで継続的に認められた。また、P10以降の歯肉結合組織内には、ICAM-1陽性血管が広範に認められた。

【考察および結論】歯の萌出に伴い、歯肉における炎症性サイトカインおよびICAM-1の発現上昇や好中球などの炎症細胞の集積が認められた。これらのことから、歯の萌出過程において歯肉上皮では形態形成のための炎症反応が起きていると考えられた。萌出過程におけるこのような細胞動態および組織学的特徴と、のちに形成される接合上皮の特性との関連を明らかにするために今後さらなる検討が必要である。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P3-23 Histological analysis of gingival epithelium in tooth eruption and development of junctional epithelium

○Fujikawa K, Fukushima M, Nakamura M

Dept Oral Anat Dev Bio, Sch Dent, Showa Univ

Objectives: The junctional epithelium (JE) constitutes the front-line defense against periodontal bacterial infection. Although JE might be derived from enamel organ, the exact cell source of JE has not been clarified. In this study, we examined the structural changes of gingival epithelium during the eruption of mouse mandibular molars and the development of JE.

Materials and Methods: BALB/c mice were used and then routinely processed for paraffin and frozen sections. Immunofluorescence staining was used to examine the localization of inflammatory cells in oral gingival tissue. Real-time PCR analysis was used to examine the expression levels of pro-inflammatory cytokines.

Results: Real-time PCR analysis showed markedly increased mRNA expression of HIF-1 α and IL-1 β between P17 and P15. Although Gr-1 positive cells were not observed in enamel organ and gingiva at P7, Gr-1 positive cells were observed at gingival connective tissue at P12 and P15. F4/80 positive cells were constantly observed in gingival connective tissue from P7 to P15.

Discussion and Conclusion: Expression of Gr-1 positive inflammatory cell and proinflammatory cytokine were upregulated during tooth eruption. These expressions may be related to specificity of JE, which constitutively expressed several types of chemokines and cytokines.

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

P3-24 歯科矯正力により歯根膜と歯髄で生じる酸化ストレスは侵害受容性神経線維上の TRPA1 の活性化または機械感受性感作を介して疼痛を誘発する

○森井 葵^{1,2}, 宮村 侑一^{1,3}, 左合 - 伊藤 美紗², 浪花 真子¹, 人見 涼露⁴, 郡司掛 香織², 黒石 加代子², 川元 龍夫², 小野 堅太郎¹

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

矯正治療中, 患者の多くは痛みを訴えるが, 痛みの発症機序は不明な点が多い. 歯根膜線維芽細胞への機械刺激により酸化物が産生されることが報告されているが, 矯正力による酸化ストレスが侵害受容を誘発するかは未解明である. 本研究では, 実験的歯の移動 (ETM) モデルを用いて歯の移動に伴う疼痛と酸化感受性 TRPA1 チャネルの関連性について明らかにすることを目的とした. 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 g の矯正力を負荷した. 活性酸素消去薬または TRPA1 拮抗薬を腹腔内投与し, 疼痛関連行動であるマウスラビング時間を測定した. ETM 群における歯根膜と歯髄での酸化ストレスの評価と末梢神経線維上の TRPA1 の発現を免疫組織化学法により解析した. また, 酸化物による TRPA1 の活性化および機械感受性感作について検討するために, カルシウムイメージングを行った. 三叉神経節細胞への浸透圧機械刺激によるカルシウム応答に対する過酸化水素 (代表的な酸化物) および TRPA1 拮抗薬の影響を検討した. ETM 群において延長した疼痛関連行動は, 各薬物投与により有意に抑制された. 実験側歯根膜および歯髄は, 対照側と比較して酸化的 DNA 損傷マーカーである 8-OHdG 抗体により濃染された. また, 各薬物投与後の 8-OHdG 免疫反応性は, 非薬物投与 ETM 群よりも明らかに弱かった. TRPA1 陽性線維は神経線維マーカーである 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. 以上の結果より, 矯正力によって誘発された歯根膜および歯髄における酸化ストレスが, 歯根膜および歯髄領域の末梢侵害受容神経線維上の TRPA1 の活性化および機械感受性感作を介して侵害受容を誘発することを示した.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P3-24 Oxidative stress produced in the periodontal tissue by orthodontic force elicit pain via activation or sensitization of TRPA1 on nociceptive nerve fibers

○Morii A^{1,2}, Miyamura Y^{1,3}, Sago-Ito M², Naniwa M¹, Hitomi S⁴, Gungigake K², Kuroishi K², Kawamoto T², Ono K¹

¹Div Orofac Funct Orthodont, Kyushu Dent Univ; ²Div Physiol, Kyushu Dent Univ; ³Div Dent Radiol, Kyushu Dent Univ; ⁴Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

Many orthodontic patients complain of pain. Mechanical force has been reported to produce oxidants in periodontal ligament (PDL) cells. However, mechanism whether orthodontic force-induced oxidative stress elicits nociception remains unclear. The study was aimed at investigating the role of the oxidant-sensitive channel TRPA1 on nociception in orthodontic pain. 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. 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 results suggest that oxidative stress in the PDL activates and/or mechanically sensitizes TRPA1 on nociceptive fibers, resulting in orthodontic nociception.

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

P3-25 ラット上顎歯肉における骨粗鬆症及びビスホスホネート製剤の形態学的影響

○芳本 岳, 川島 渉, 上村 守

大歯大 歯解剖

ビスホスホネート製剤 (BP) は、骨粗鬆症 (OP) などの治療薬として広く用いられている。歯科において BP の副作用は顎骨壊死がよく知られており、過去の報告も硬組織に着目したものが多く、一方、軟組織への形態学的影響を調べた報告は少ない。そこで、BP 投与によるラット上顎第一臼歯口蓋側歯肉への形態学的影響を調査した。生後 8 週齢雌性 Wistar 系ラットを使用し、両側の卵巣摘出術を行う OP 群と、開腹のみの疑似手術群に分けた。10 週間飼育後、それぞれの群をさらに BP 投与群と生理食塩水 (NS) 投与群に分けた。投与完了 1 週後に全てのラットを安楽死させ、上顎骨を摘出した。組織標本では、顕微鏡を用いて粘膜上皮の角質層、顆粒層、有棘層、基底層の厚みを計測した。さらに、顆粒層および有棘層の細胞数と、粘膜上皮下結合組織の面積を計測した。微細血管鑄型標本では、走査電顕を用いて毛細血管の直径を計測し、血管網の形態を観察した。粘膜上皮の厚みと細胞数は、各群に差は認められなかった。しかしながら、結合組織の断面積と毛細血管の直径は、BP 投与群の値が NS 投与群よりも有意に小さかった。また、血管網の形態は、NS 投与群が規則正しい長方形であったのに対し、BP 投与群は不規則な楕円形であった。したがって、OP のみでは上顎歯肉および毛細血管への影響は認められないが、BP 投与が歯肉粘膜下組織の萎縮性変化ならびに細小血管症を引き起こす可能性が示唆された。以上のことから、BP 投与による影響は、歯槽骨などの硬組織だけではなく、歯肉粘膜下組織および毛細血管などへの影響も考慮する必要があると考えられた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P3-25 Morphological influence of the osteoporosis and the bisphosphonates for rat maxillary gingiva

○Yoshimoto G, Kawashima W, Uemura M

Dept Anat, Osaka Dent Univ

We investigated the morphological influence of bisphosphonates (BP) on maxillary gingiva using the ovariectomized osteoporosis model and sham-operated 8-week-old Wistar rats. The rats were respectively injected with BP or normal saline (NS). The thickness of keratinized, granular, prickle, and basal layers; the cell population of the granular and prickle layers; and the cross-sectional area of connective tissue beneath the mucosal epithelium were determined by image analysis of light micrographs taken from hematoxylin-eosin stained specimens. The thickness of gingival capillaries and morphology of capillary loops were determined by image analysis of scanning electron micrographs from microvascular corrosion cast specimens. We found that there were no differences between epithelium thickness and cell population in each group. In contrast, the cross-sectional area of connective tissue and capillary thickness of the BP groups were significantly smaller than the NS groups. These results suggested that there was no morphological influence only by OP, but BP caused atrophic changes in the connective tissue and microangiopathy of maxillary gingiva. In conclusion, we should pay attention to the effects of BP not only on the alveolar bone, but also to the connective tissue and the capillaries of the gingiva.

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

P3-26 根尖性歯周炎を誘発したラット臼歯歯根膜ルフィニ終末の形態学的変化

○丹沢 聖子¹, 北村 啓², 石川 昂³, 田宮 資己¹, 古澤 成博¹, 山本 仁²

¹東歯大 歯内, ²東歯大 組織発生, ³東歯大 法歯人類

【目的】 歯根膜に存在する神経終末としてルフィニ終末が知られている。歯根膜のルフィニ終末は、歯の移動や神経損傷、咬合力の変化により形態が変化するとともに、高い再生能力をもつことが報告されている。しかし、根尖性歯周炎における歯根膜ルフィニ終末の形態学的変化については不明である。そこで本研究は、成体ラット臼歯において根尖性歯周炎を誘発したときの歯根膜ルフィニ終末の変化を観察することを目的とした。

【材料・方法】 生後10週齢の雄性Wistarラットを用い、下顎右側第一臼歯近心根を観察対象とした。全身麻酔後、下顎右側第一臼歯を露髄させ口腔内に放置し、2, 4, 6週間後に灌流固定を行った。下顎左側第一臼歯をそれぞれコントロール群とした。10%EDTA溶液にて脱灰後、通法に従いパラフィンに包埋し、厚さ5 μ mの前頭断切片を作製してH-E染色と抗GAP-43抗体を用いた免疫組織化学によりルフィニ終末の形態観察を行った。

【結果・考察】 H-E染色により生後10週には下顎第一臼歯の歯根が完成していることを確認した。コントロール群ではどの段階においても根尖部の構造に変化を認めなかったが、実験群では露髄2週後に根尖付近に炎症性細胞浸潤や歯根膜腔の拡大を認めた。露髄4週後には露髄2週後にみられた変化が増大しており、露髄6週後には膿瘍形成が一部で認められた。抗GAP-43抗体をもちいた免疫組織化学では、実験群の露髄2週後の歯根膜ルフィニ終末は細胞浸潤が生じている領域の外側に分布し、小型の紡錘形を示した。露髄4週後では突起を伸ばすルフィニ終末を認めたが、多くは円形を呈していた。露髄6週後では、太い突起をもつものも認められたが、細く不明瞭な突起をもつものが多かった。以上の結果から、根尖性歯周炎は歯根膜ルフィニ終末の形態変化をもたら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。

P3-26 Morphological changes of the periodontal Ruffini endings in rats after induced apical periodontitis

○Tanzawa S¹, Kitamura K², Ishikawa N³, Tamiya Y¹, Furusawa M¹, Yamamoto H²

¹Dept Endodont, Tokyo Dent Coll; ²Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll; ³Dept Forensic Odontol Anthropol, Tokyo Dent Coll

Ruffini endings are known nerve endings in the periodontal ligament. It has been reported that the periodontal Ruffini endings changes morphology due to tooth movement, injury to the nerve and occlusal force, and has high regeneration ability. The morphological changes during apical periodontitis are still unknown. The purpose of this study was to observe the morphological changes of the periodontal Ruffini endings during apical periodontitis. The pulp of mandibular right first molar of 10-week-old male Wistar rat was exposed. There were sacrificed after 2, 4 and 6 weeks. The frontal sections of the molars were made for hematoxylin-eosin staining and immunohistochemistry with anti-GAP-43 antibody. In the experimental group of 2 weeks after exposure, inflammatory cells were observed near the apex and increased after 4 weeks, and the abscess were partially observed after 6 weeks. Immunohistochemistry of anti-GAP-43 antibody clarified that the Ruffini endings were showed small spindle shape at 2 weeks after the exposure. Some terminals were found to extend the protrusion after 4weeks, and seemed thick ramification after 6weeks, but most of arborization had unclear. Our findings suggested that apical periodontitis causes a morphological change the periodontal Ruffini endings.

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

P3-27 唾液中タンパク質の働きーラクトフェリン, シスタチン S の抗真菌作用に着目してー

○福井 佳代子¹, 原 基¹, 二宮 一智^{1,2}, 桑島 治博¹, 今井 あかね^{3,4}, 仲村 健二郎¹

¹日歯大 新潟生命歯 薬理, ²日歯大 新潟病院 総合診療科, ³日歯大 新潟生命歯 生化, ⁴日歯大 新潟短大 歯科衛生

【目的】

近年, 抗真菌薬の薬剤耐性が問題となっている. 唾液中タンパク質が抗真菌作用を示すことや薬剤耐性を解除することを明らかにするため, ラクトフェリンやシスタチン S の抗真菌作用を検索する.

【方法】

薬剤排出に関連する主要な 7 個のトランスポーター遺伝子を欠損したパン酵母 *Saccharomyces cerevisiae* AD1-8u (親株) と親株の染色体に *Candida albicans* の ATP - Binding Cassette Transporter 遺伝子 *Cdr1* を組み込み高発現させたパン酵母 *S. cerevisiae* AD1-8u $Cdr1$ (耐性株) を用いた. ラクトフェリンまたはシスタチン S と, アゾール系抗真菌薬フルコナゾールとの併用で微量液体希釈法において 35°C, 48 時間培養し, 吸光度を測定した.

【結果】

ラクトフェリンは, 耐性株においてフルコナゾール併用でフルコナゾール耐性を解除した. また単独でも *C. albicans* に対して抗真菌作用を示した. シスタチン S は, 耐性株においてフルコナゾール併用で耐性解除作用は認められなかったが, 親株において併用でフルコナゾールの感受性を高めた. シスタチン S 単独で *C. albicans* に対して静菌作用が認められた.

【考察】

薬剤耐性が問題となっているが, ラクトフェリンを併用することでフルコナゾール耐性を解除し抗真菌作用を示すことが明らかになり, 薬剤耐性の解決の糸口になると考えられる. シスタチン S の作用機序は薬剤排出ポンプ *Cdr1p* ではないことが明らかとなり, 現時点で作用機序は不明だが, 抗真菌作用を示すと考えられる.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P3-27 Function of protein in saliva: Focusing on the antifungal and drug-resistance breaking effects of lactoferrin and cystatin S

○Fukui K¹, Hara H¹, Ninomiya K^{1,2}, Kuwashima H¹, Imai A^{3,4}, Nakamura K¹

¹Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ Niigata; ²Compr Dent, Niigata Hosp, Nippon Dent Univ; ³Dept Biochem, Nippon Dent Univ Niigata; ⁴Dept Dent Hyg, Nippon Dent Univ Coll Niigata

Introduction:

Resistance to antifungal drugs has become a problem recently. We investigated the antifungal- and antifungal-resistance releasing activities of salivary lactoferrin and cystatin S.

Materials & Methods:

Saccharomyces cerevisiae AD1-8u lacking seven of its major transporter genes associated with drug efflux (parent strain) and *S. cerevisiae* for inserting the drug resistance gene of *Candida albicans* into the chromosome of the parent strain (resistant strain) were used. The growth inhibition of each strain caused by fluconazole combined with lactoferrin or cystatin S was evaluated by measuring concentration at OD₆₂₀.

Results:

Lactoferrin not only alleviated fluconazole resistance but also showed antifungal activity without fluconazole. Cystatin did not alleviate fluconazole-resistance activity; however, it showed antifungal activity without fluconazole.

Discussion:

Concomitant use of lactoferrin alleviated fluconazole resistance and increased its antifungal activity. These results suggest an approach for dealing with drug resistance. Cystatin S was found to have no effect on *C. albicans* *Cdr1p*, but appeared to have antifungal activity; however, its mechanism of action remains unknown.

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

P3-28 *Candida albicans* 経口摂取が腸内細菌叢に及ぼす影響

○長谷部 晃, 佐伯 歩, 柴田 健一郎

北大 院歯 口腔分子微生物

【目的】 *Candida albicans* (Ca) はヒトの口腔などに常在する真菌であり, 口腔カンジダ症の原因ともなる. 口腔カンジダ症患者は Ca を嚥下していることから, 本菌が腸内細菌叢を変動させ, 結果として全身状態に影響を与えているのではないかと考えた. そこで, 本研究では Ca を持続的に口腔から摂取することにより腸内細菌叢ならびに全身の健康状態がどのように変動するか検証することを目的とした.

【方法】 C57BL/6, 4 週齢の雌マウスの糞便中に Ca が存在しないことを確認後, AIN-93G を飼料として 2 週間与えた. その後 16 時間絶食させてから Ca (5×10^7 cfu/匹) を経口摂取した. 摂取 2 週間後における Ca の定着を確認するため, 糞便をカンジダ GS 培地に摂取した. Ca の有無による腸内細菌叢の変化は T-RFLP 法で調べ, 糞便中の IgA は ELISA 法で調べた. また, 腸内細菌叢の変動がデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) により誘導された腸炎に及ぼす影響を調べるため, 2.0% DSS 含有の水あるいは通常の水を与え, Ca 経口摂取後から 25 日間の体重変化を, さらに腸管における細胞間接着因子の発現をウェスタンブロッティング法で調べた.

【結果】 Ca 経口摂取により胃粘膜に Ca が定着し, 同部位における炎症性細胞の浸潤が見られた. 糞便中の細菌叢については Ca 定着により通性嫌気性の Lactobacillales 目の割合が増加し, 偏性嫌気性菌の割合が減少した. 糞便中の IgA の量は Ca を経口摂取により増加していた. また DSS 水の飲水投与により Ca 非摂取マウスの体重増加は有意に抑制されたが, DSS の飲水投与ならびに Ca の持続的な摂取があったマウスでは, 体重がさらに有意に減少した. 腸管における細胞間接着因子は, DSS の飲水投与ならびに Ca の持続的な摂取があったマウスにおいてのみ発現の低下が認められた.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P3-28 The effects of *Candida albicans* oral ingestion on intestinal microbial flora

○Hasebe A, Saeki A, Shibata K

Dept Oral Mol Microbiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

The purpose of this study is to examine how the intestinal microflora is affected by continuous oral ingestion of *Candida albicans* (Ca).

Mice were used after confirming the absence of Ca in the feces. Ca was orally ingested and after 2 weeks, Ca colonization was confirmed. Changes in the intestinal flora with or without Ca were examined by T-RFLP, and IgA in feces was examined by ELISA. To examine the effect of changes in intestinal flora on dextran sulfate sodium (DSS) -induced colitis, 2.0% DSS was used. The expression of intercellular adhesion molecules in the intestine was examined by Western blotting.

Oral ingestion of Ca resulted in the colonization of Ca in the gastric mucosa. The proportion of facultatively anaerobic bacteria increased and the proportion of anaerobic bacteria decreased in feces due to Ca colonization. The amount of IgA in feces was increased by the ingestion of Ca. The body weight was significantly decreased in the mice administrated with DSS and the continuous Ca ingestion. The expression levels of intercellular adhesion molecules in the intestine was downregulated only in mice administrated with DSS water and continuously ingested Ca.

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

P3-29 口腔粘膜炎を併発した口腔カンジダ症モデルマウスにおける真菌血症の予防法に関する研究

○二宮 一智¹, 片桐 浩樹^{2,3}, 原 基¹, 福井 佳代子¹, 桑島 治博¹, 羽下-辻村 麻衣子^{2,3}, 中原 賢³, 仲村 健二郎¹

¹日歯大 新潟生命菌 薬理, ²日歯大 新潟生命菌 解剖 2, ³日歯大 新潟生命菌 先端研セ

本研究は、口腔カンジダ症モデルマウスを使用し、真菌血症に対して、口腔ケアと抗真菌薬の予防投与の有効性を評価することを目的とした。8週齢の雄性 ICR マウスに、化学療法施行後、*C. albicans* を接種して口腔カンジダ症を発症させ、口腔粘膜炎をさせたモデルマウスを使用した。マウスは、化学療法施行開始後、3, 4, 5 日目に、食物残渣の除去（口腔ケア）群（A 群）、抗真菌薬経口投与群（B 群）、抗真菌薬静脈内投与群（C 群）、無処置対照群（D 群）の 4 群に分けた。各群は、10 匹のマウスを使用した。すべてのマウスを 6 日目に安楽死させ、マウス舌の CFU（Colony forming units）を測定し、血液培養により真菌血症発症の有無の確認を行った。これらの結果について統計学的解析を行った。陽性検体に対しては、multiplex PCR 法を用いて、その菌種を特定した。D 群の検体に対しては、nested PCR 法で実験汚染が無い事、使用マウスが *C. albicans* を保菌していないことを確認した。舌 CFU の測定結果は、B, C 群と比べて、A 群が有意に低かった ($p < 0.01$)。血液培養結果は、A 群 4/10, B 群 2/10, C 群 1/10, D 群 0/10 で陽性であったが、有意差を認めなかった。陽性であると判定した血液培養物からのすべての検体は、multiplex PCR 法によって *C. albicans* として識別された。D 群の nested PCR 法では、すべての検体が *C. albicans* に対して陰性であり、実験汚染、使用マウスの保菌が無い事が示された。舌 CFU と血液培養の結果により抗真菌薬の予防的投与が有効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。

P3-29 Study on the prevention methods of fungemia in oral candidiasis mouse model with oral mucositis

○Ninomiya K¹, Katagiri H^{2,3}, Hara H¹, Fukui K¹, Kuwashima H¹, Haga-Tsujimura M^{2,3}, Nakahara K³, Nakamura K¹

¹Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ Niigata; ²Dept Histol, Nippon Dent Univ Niigata; ³Adv Res Center, Nippon Dent Univ Niigata

The purpose of this study is to evaluate the effectiveness of oral care and prophylactic administration of antifungal drugs against fungemia using a mouse model of oral candidiasis with mucositis. We explored tongues colony forming units (CFU) and the positive number of fungemia by blood cultures using the following experimental groups (n=10): removal of food residue as oral care (group A), oral administration of an antifungal drug (group B), intravenous administration of an antifungal drug (group C), and negative control group without any other treatments (group D). The results of tongues CFU and blood cultures were statistically analyzed. Positive blood cultures were analyzed by multiplex PCR and nested PCR were conducted in group D. Tongues CFU were significantly lower in groups B and C than in groups A ($p < 0.01$). Positive blood cultures were found in four specimens in group A, two in group B, one in group C and zero in group D, but no statistically significant difference was observed. We confirmed *C. albicans* in all positive specimens from blood cultures and no contamination by multiplex PCR and nested PCR, respectively. Our results suggested that prophylactic using antifungal drugs is effective for fungemia induced by oral mucositis.

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

P3-30 健常学生の唾液由来における *Streptococcus sobrinus* の分布状況

○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

【目的】 ヒト齲蝕の原因菌は *Streptococcus mutans* と *Streptococcus sobrinus* の2菌種であることが知られている。 *S. sobrinus* は齲蝕誘発能力が高いとの報告もあるが不明な点も多い。今回、健常学生の唾液を検体としてカリエスリスク判定の一項目として *S. sobrinus* の保有率を検索した。

【方法】 試料は歯学部2年生127名から歯科用パラフィンを使用して採取した刺激唾液を用いた。希釈後、総レンサ球菌用 mitis-salivarius (MS) 培地、 *S. mutans* 選択用 MS-MUTV 培地および *S. sobrinus* 選択用 MS-SOB 培地に塗抹し、培養を行った。コロニーが発育した MS-SOB 培地数をカウントし、 *S. sobrinus* の保菌率を算出した。MS-SOB から菌を分離培養し、 *S. sobrinus* に対する特異的プライマーを使用した PCR を行い、 *S. sobrinus* の菌種同定を行った。シヨ糖依存性菌体付着能および不溶性グルカン合成能試験は既報に準じて行った。

【結果および考察】 MS 培地では、すべての唾液試料からコロニーが発育し、MS-MUTV では93.7% (119/127)、MS-SOB 培地からは27.6% (35/127) の割合でコロニーの発育が見られた。さらにコロニーが発育した35名のMS-SOB培地から分離培養した菌についてPCRを行ったところ、20菌株が *S. sobrinus* と確認され、補正後の *S. sobrinus* 検出率は15.8% (20/127) であった。この20菌株のシヨ糖依存性菌体付着能と不溶性グルカン合成能に大きな差はみられなかった。カリエスリスクの判定には様々な要因があり生活習慣の影響も大きく、 *S. sobrinus* との混合感染もリスク判定項目の一つである。未来の歯科医療従事者として齲蝕予防への意識付けすることは重要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。

P3-30 Distribution of *Streptococcus sobrinus* from saliva in healthy students

○Shinozaki-Kuwahara N, Saito M, Hashizume-Takizawa T, Kobayashi R, Kurita-Ochiai T

Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo

Streptococcus sobrinus is known to as a cariogenic bacterium of human. In this study, the distribution of *S. sobrinus* was examined from saliva. The saliva samples collected from 127 healthy students were inoculated on mitis-salivarius (MS) agar, MS-MUTV, and MS-SOB, which are selective medium for total streptococci, *S. mutans*, and *S. sobrinus*, respectively. After incubation, carrier rate of *S. mutans* and *S. sobrinus* were calculated. The isolated colonies from MS-SOB were subjected to PCR using primers for species identification of *S. sobrinus*. Sucrose-dependent colonization test and water-insoluble glucan synthesis test were carried out. Streptococcal species was detected on of all students on MS agar. The detection rate of *S. mutans* and *S. sobrinus* were found in 93.7% (119/127) and 27.6% (35/127), respectively. Among the isolated 35 colonies from MS-SOB agar, 20 samples were detected as *S. sobrinus* by PCR, resulting revised carrier rate of *S. sobrinus* was 15.7% (20/127). The ability of adherence and water-insoluble glucan synthesis in these 20 strains did not so have the difference. It is said that mix infection of *S. mutans* and *S. sobrinus* is cause of elevate the caries risk. So, it is necessary to effort the prevention of dental caries.

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

P3-31 電解還元性イオン水 (s-100) の殺菌効果と細胞毒性

○葛城 啓彰

日歯大 新潟生命歯 微生物

【目的】電解還元性イオン水 (ERIW) は、エー・アイ・システムプロダクトより提供された有隔膜二室型電解槽における食塩水の電解による電解水で、pH:12.34, ORP: -70 ~ -50 mV, 表面張力: 56.1 mN/m, 浸透圧: 107 mOsm の物性を有する。この ERIW を用いて各種細菌・真菌への殺菌効果と細胞毒性を検討した。

【方法】使用菌株 本実験に使用した細菌は 15 種 (グラム陽性菌 6 属: *Staphylococcus* 属, *Streptococcus* 属, *Enterococcus* 属, *Actinomyces* 属, *Lactobacillus* 属, *Bacillus* 属, グラム陰性菌 6 属: *Escherichia* 属, *Pseudomonas* 属, *Aggregatibacter* 属, *Porphyromonas* 属, *Tannerella* 属, *Fusobacterium* 属) である。また、真菌として、*Candida albicans* 株 (*C. albicans*) を用いた ERIW の殺菌試験は、電解酸化水 9.9 ml に対し菌液 0.1 ml を加え全量を 10.0 ml (電解酸化水: 菌液 = 100:1) とした。対照には電解酸化水の代わりに生理食塩液 9.9 ml を用いた。上記試験液は室温で混合し、混合開始後 1 分, 5 分, 10 分後に試験液より 1.0 ml 分取し、連続段階希釈法を行い、コロニー形成法数および ATP 測定法により行った。

【結果】ERIW は、混合開始後 1 分においてグラム陰性菌には著明な殺菌効果を示した。グラム陽性菌および *C. albicans* に対しては、10 分以上の接触時間で一定程度の殺菌効果が認められた。細胞毒性試験では、LD50 が、40.5 (w/w%) であった。

【考察】以上の結果から ERIW は、各種細菌に対して殺菌効果を示し特にグラム陰性菌である歯周病原菌には著明な殺菌効果を認めた。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

P3-31 Bactericidal activity and cell toxicity of newly electrolytic reducing ionic water

○Katsuragi H

Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Niigata

Purpose: Electrolytic reducing ionized water (ERIW) is electrolyzed water obtained by electrolysis of saline in a diaphragm two-chamber electrolysis cell provided by AI System. In this study, the ERIW was used to examine the bactericidal effect against various bacteria and fungi and cytotoxicity. Methods: 15 species of bacteria used in this experiment (Gram-positive bacteria 6 genera: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Actinomyces*, *Lactobacillus*, and *Bacillus*, gram-negative bacteria 6 genera: *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Aggregatibacter*, *Porphyromonas*, *Tannerella*, *Fusobacterium*), and *Candida albicans*. In the ERIW sterilization test, 0.1 ml of bacterial solution was added to 9.9 ml of ERIW to make the total volume 10.0 ml. The test solution was mixed at room temperature, 1.0 ml was taken from the test solution 1, 5, and 10 minutes after the start of mixing, and the serial dilution method was performed, followed by the colony formation and the ATP measurement methods. Results: ERIW showed a marked bactericidal effect against Gram-negative bacteria. For Gram-positive bacteria and *Candida*, a certain degree of bactericidal effect was observed at a contact time of 10 minutes or longer. In the cytotoxicity test, LD50 was 40.5 (w/w%). Conclusion: ERIW showed a bactericidal effect against some gram-negative periodontopathic bacteria.

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

P3-32 羅漢果抽出液の口腔微生物に対する抗菌効果の基礎的研究

○齋藤 真規, 桑原 紀子, 瀧澤 智美, 落合 智子

日大 松戸歯 感染免疫

【目的】羅漢果 (*Siraitia grosvenorii*) 粉末は天然由来の甘味料であり、甘味の主成分であるトリテルペン配合体はスクロースの300倍以上の甘味があるといわれている。羅漢果の効能として抗酸化作用、抗炎症作用、抗ガン作用、抗アレルギー作用が報告されているが、微生物に対する効果は報告されていない。本研究では羅漢果の口腔感染症に対する予防効果について、齶蝕原性細菌、歯周病原細菌および口腔真菌を用いた最小発育阻止濃度 (MIC) を測定することにより検討を試みた。

【方法】羅漢果粉末は蒸留水に懸濁し、高圧蒸気滅菌後、遠心分離した上清を羅漢果抽出液 (20w/v%) とした。齶蝕原性細菌として *Streptococcus mutans* および *Streptococcus sobrinus*、歯周病原細菌として *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, および *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*、口腔真菌として *Candida albicans* および *Candida dubliniensis* を使用した。96穴マイクロプレートに液体培地で二倍段階希釈した各濃度の羅漢果抽出液を分注後、各菌種の前培養菌を添加して培養を行った。培養後、各濃度における菌の発育により、MIC を測定した。

【結果と考察】羅漢果抽出液の齶蝕病原細菌及び歯周病原細菌のいずれの菌種においても MIC は10%であったが、口腔真菌に対する抗真菌効果は認められなかった。近年、口腔疾患が心血管疾患、誤嚥性肺炎、糖尿病などの全身疾患の発症や増悪に強く関連していることが報告されている。羅漢果は口腔疾患のみならず全身疾患の予防にも寄与でき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。

P3-32 Basic study on antimicrobial effect of *Siraitia grosvenorii* extract on oral microorganisms

○Saito M, Shinozaki-Kuwahara N, Hashizume-Takizawa T, Kurita-Ochiai T

Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo

Siraitia grosvenorii is one of the natural sweetener, and the main component of sweetness is a triterpene that is 300 times sweeter than sucrose. In recent years, some studies have reported that the *Siraitia grosvenorii* extract shows antioxidative, anti-inflammatory anticarcinogenic, and anti-allergic properties. The purpose of this study is to investigate the antimicrobial effect of *Siraitia grosvenorii*. Autoclaved 20w/v% *Siraitia grosvenorii* powder suspension was centrifuged to collect the resulting supernatant as crude extract. The bacterial and fungal strains used in this study are *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* as cariogenic bacteria, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* as periodontopathogens, and *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* as oral fungi. Minimum inhibitory concentration (MIC) of these strains were determined by a broth microdilution method. The MIC of crude extraction on two cariogenic bacteria and three periodontopathogens are 10%, respectively. The antifungal effect of *Siraitia grosvenorii* on oral fungi were not observed. Recently, it has been recognized that oral infection may affect the course and pathogenesis of a number of systemic diseases, such as cardiovascular disease, aspiration pneumonia, and diabetes mellitus. It would be suggested that *Siraitia grosvenorii* may contribute to the prevention of systemic diseases as well as oral diseases.

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

P3-33 *Prevotella nigrescens* の線毛の精製ならびに解析

○藤田 真理, 宮川 博史, 永野 恵司

北医療大 菌 微生物

Prevotella nigrescens は黒色色素を産生する偏性嫌気性菌で, ヒト口腔から検出され, また, 菌体表面に線毛様構造物を発現している。しかし, 本菌の線毛を構成するタンパク質は同定されていない。そこで, 本研究では *P. nigrescens* の線毛タンパク質の同定を試みた。*P. nigrescens* JCM 12250 (線毛を豊富に発現) を変法 GAM ブイヨン培地で培養した。回収した菌体を, プロテアーゼ阻害剤を添加した Tris 緩衝液, pH 8.0 に懸濁し, 超音波破碎した。残渣を遠心にて除去した後, 40% 飽和硫酸アンモニウム沈殿画分を回収した。Tris 緩衝液, pH 8.0 にて透析後, 陰イオン交換クロマトグラフィー (DEAE Sepharose) を用い, 0.5 M NaCl の濃度勾配抽出法にて分画した。280 nm の波長に吸光を示す画分を透過型電子顕微鏡観察し, 線毛様構造物が観察される画分 (線毛画分) を見出した。線毛画分を, SDS-PAGE および CBB 染色解析を行い, タンパク質を検出したところ, ほぼ単一のタンパク質バンドが認められた。次に, アミノ酸配列分析を行い, N 末端から 8 残基のアミノ酸配列を決定した。得られた配列を *P. nigrescens* のタンパク質データベースに対し BLAST 検索を行ったところ, タンパク質 X (未公表データ) の中に該当する配列を見出した。また, 得られた遺伝子情報から組換えタンパク質を作製してウサギに免疫したところ, native 線毛と反応する抗血清が得られた。現在, タンパク質 X が線毛構成タンパク質であることを確認するために, その抗血清を用いて菌体表面の線毛様構造物の標識し, 免疫電子顕微鏡法で解析することを検討している。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P3-33 Purification and analysis of fimbriae of *Prevotella nigrescens*

○Fujita M, Miyakawa H, Nagano K

Div Microbiol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Prevotella nigrescens is, an anaerobic and black-pigmented bacterium, often detected in human oral cavity, and generally expresses fimbriae on the surface. However, the proteins composing of the fimbriae have not been identified. In this study, we tried to identify the fimbrial proteins/genes of *P. nigrescens*. *P. nigrescens* JCM 12250(ATCC 33563), expressing abundant fimbriae, was sonicated, and fractionated with 40% saturated ammonium sulfate. The precipitation fraction was dialyzed against Tris buffer, pH 8.0. Then it was fractionated using DEAE-Sepharose anion exchange chromatography with a gradient of sodium chloride. Fractions in which a fimbria-like structure was observed by TEM were subjected to SDS-PAGE and CBB-staining analysis, and an almost single protein band was detected. Next, the amino acid sequence was analyzed by a protein sequencer, and the amino acid sequence of eight residues from the N-terminus (8-aa sequence) was determined. A BLAST search of the 8-aa sequence against the protein database of *P. nigrescens* ATCC 33563 revealed a corresponding sequence within protein X (unpublished data). And We have produced recombinant protein with *E. coli* and a rabbit antiserum has been raised against fimbriae. To further confirm the protein X, we are examining Immunoelectron microscopy characterization of fimbriae with the antiserum.

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

P3-34 口腔レンサ球菌の感染に関わる病原因子の多様性の解明

○石川 結子, 才木 桂太郎, 田代 有美子, 山中 幸, 林田 尚斗, 高橋 幸裕

日歯大 生命菌 微生物

デンタルプラークは多菌種から成る口腔バイオフィルムであり, その形成は早期定着細菌によるペリクルへの付着から始まる. そこでは細胞表面に存在している付着因子 (アドヘジン) が重要な役割を果たしている. 早期定着細菌の一つである *Streptococcus gordonii* の DL1 株に存在するアドヘジン Hsa は, 宿主細胞表層のシアル酸複合糖鎖に対して強い結合能を持ち, とりわけその NR2 領域が口腔レンサ球菌の病原性に重要であることが指摘されてきた. しかし, そのホモログの多様性については詳細な報告がない. 本研究では, 口腔レンサ球菌臨床分離株の付着活性と Hsa ホモログの発現を検証した. 被験者より採取したデンタルプラークから分離した菌株は, Rapid ID32 Strep Api® および 16S rRNA 遺伝子塩基配列により菌種同定した. また, ヒト赤血球に対する凝集活性の測定, ドットプロット法による Hsa ホモログおよび NR2 領域の検出を行った. *S. gordonii* を含む 7 菌種 190 株の口腔レンサ球菌を分離した. 赤血球凝集活性は Low 群が 141 株, Medium 群が 38 株, High 群が 11 株であり, 抗 Hsa 抗体と反応した株は 118 株, 抗 NR2 抗体と反応した株は 34 株であった. 以上の結果と過去の研究より, Hsa の NR2 領域は赤血球凝集活性と関連があること, *S. gordonii* 株でシアル酸結合能を持つアドヘジンが存在する可能性が高いことが分かった. また, *S. gordonii* 株は Hsa ホモログの保有率が他菌種より高い傾向にあったが, NR2 類似抗原の保有率ではその傾向を示さなかった. これらは, NR2 領域内においてシアル酸結合に関与する特定の配列の存在を示唆する. 今後, NR2 領域をコードする遺伝子のシーケンス解析を進め, 病原性との関連について検討していく予定である.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P3-34 Analysis of diversity of virulence factors associated with oral streptococcal infection

○Ishikawa Y, Saiki K, Tashiro Y, Yamanaka Y, Hayashida N, Takahashi Y

Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent Tokyo

The formation of the dental plaque is initiated by the adhesion of early colonizer to acquired pellicle on the tooth surface. Hsa adhesin of *Streptococcus gordonii* DL1 which is a kind of early colony forming bacteria has strong binding to host receptors containing terminal sialic acid. Particularly, NR2 region has the role that is important to virulence. However, little is known about diversity of Hsa homologue. We analyzed Hsa homologue between the different wild bacterial strains of oral streptococci. The strains were isolated from the dental plaque. The bacterial species was identified by using Rapid ID32 Strep Api® and by 16S rRNA gene sequencing. We performed the measurement of the hemagglutination activity and dot blot with anti-Hsa and anti-NR2 antibodies. The results indicated NR2 region was related to the hemagglutination activity. Relatively high probability possessing Hsa homologue was observed among *S. gordonii* strains. However, the express rate of the NR2 similarity antigen is not higher than other bacterial species. Further analysis such as the DNA sequencing of the gene encoding NR2 region is needed to associate the Hsa homologue with the virulence.

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

P3-35 宿主由来エラスターゼは HLA クラス II 発現を抑制する

○土門 久哲^{1,2}, 前川 知樹^{1,2}, 寺尾 豊^{1,2}

¹新潟大 院医歯 微生物, ²新潟大 院医歯 高度口腔機能教研セ

【目的】肺炎球菌性肺炎が重症化すると、多量に遊走した好中球からエラスターゼが放出され、肺組織が傷害を受けると推察されている。この分子メカニズムとして、肺炎球菌由来の毒素であるニューモリシンが好中球の細胞死を誘導し、エラスターゼを漏出させることを明らかにしてきた。しかしながら、エラスターゼが宿主の獲得免疫機構に及ぼす影響については解明されていない。本研究では、マクロファージの HLA クラス II 発現に及ぼすエラスターゼの作用について解析した。

【方法】血液から単離したヒト好中球に、組換えニューモリシンを添加して細胞死を誘導した。同培養系より上清を採取してヒト単球系細胞株 THP-1 に添加し、一定時間後の HLA クラス II 分子 (HLA-DP β 1) の発現を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。続いて、THP-1 細胞に好中球エラスターゼを添加し、同様に HLA-DP β 1 の発現解析を行った。さらに、HLA クラス II 分子 (HLA-DP α 1, HLA-DP β 1, HLA-DQ α 1, HLA-DQ β 1, HLA-DR α および HLA-DR β 1) の組換え体に好中球エラスターゼを添加し、SDS-PAGE にて各組換え体に対する分解作用を解析した。

【結果】好中球死細胞の培養上清を添加した THP-1 細胞では、生細胞の上清を添加した群と比較して、HLA-DP β 1 発現が低下した。また、好中球エラスターゼ阻害剤の添加により、死細胞培養上清による HLA-DP β 1 発現低下作用が抑制された。同様に、好中球エラスターゼを添加した THP-1 細胞では、未添加群と比較して HLA-DP β 1 発現が低下した。さらに、好中球エラスターゼは、本研究で用いた全ての HLA クラス II 分子組換え体を分解した。

【考察と結論】肺炎球菌のニューモリシンにより好中球から漏出したエラスターゼは、HLA クラス II を分解し、発現を低下させることにより、宿主の獲得免疫応答を妨げ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。

P3-35 The effect of neutrophil elastase on MHC class II expression in pneumococcal pneumonia

○Domon H^{1,2}, Maekawa T^{1,2}, Terao Y^{1,2}

¹Div Microbiol Infect Dis, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ²Res Center Adv Oral Sci, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ

Objectives: Neutrophils and their granule enzymes, including neutrophil elastase, have been implicated as key mediators in the pathophysiology of pneumonia. Although intracellular neutrophil elastase exerts important functions as a host defensive factor, leakage of neutrophil elastase into airway spaces induces degradation of host connective tissue components. The purpose of this study was to investigate whether neutrophils possess proteases that cleave adaptive immune molecules.

Methods: THP-1-derived macrophages were incubated with supernatant of pneumococcal pore-forming toxin-treated neutrophils in the presence or absence of neutrophil elastase inhibitor followed by evaluation of HLA-DP beta1 expression by using confocal laser microscopy. Additionally, SDS-PAGE was performed to analyze the proteolytic effect of neutrophil elastase against HLA molecules.

Results and Discussion: The expression of HLA class II molecule HLA-DP beta1 decreased in THP-1 derived macrophages treated with supernatants from dead neutrophils. The decrease in HLA-DP beta1 expression was counteracted by treatment with neutrophil elastase inhibitor, suggesting the proteolytic cleavage of the molecule by neutrophil elastase. SDS-PAGE showed that neutrophil elastase cleaved recombinant HLA-DP alpha1, -DP beta1, -DQ alpha1, -DQ beta1, -DR alpha, and -DR beta1. These findings suggest that leakage of neutrophil elastase inhibit expression of HLA class II by proteolysis of these molecules.

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

P3-36 *Citrobacter koseri* は ATP 産生を介して樹状細胞に IL-33 を誘導する

○片岡 嗣雄, 森 大気, 引頭 毅

朝日大 歯 口腔微生物

【目的】 食物アレルギーの発症は、腸内細菌叢の構成変化に伴う粘膜免疫系の破綻が原因の一つと考えられている。我々は、食物アレルギーモデルマウスの糞便中で有意に増殖していた *Citrobacter* 属細菌が腸管上皮細胞に作用し IL-33 の発現を促進することでアレルギー症状を増悪させることを既に報告している。一方、腸管粘膜では上皮細胞だけでなく樹状細胞も粘膜免疫機構において重要な役割を果たすことが知られている。本研究では、*Citrobacter* 属のうち特に *C. koseri* の IL-33 産生誘導について検討したので報告する。

【方法】 *C. koseri* JCM1658 は BHI 培地にて培養した。*C. koseri* 菌体から phenol-water 法にて LPS を抽出した。マウス樹状細胞株 DC2.4 における IL-33 の mRNA 発現はリアルタイム PCR 法で評価し、産生は ELISA にて定量した。培養上清中の ATP は BacTiter-Glo Microbial Cell Viability Assay (Promega) にて定量した。

【結果と考察】 *C. koseri* の生菌は DC2.4 に IL-33 発現を誘導したが、抽出 LPS は発現を誘導しなかった。LPS で DC2.4 を前処理すると生菌による IL-33 発現は抑制された。LPS の存在下では生菌ならびに DC2.4 の増殖は抑制された。生菌の添加により培養上清中の ATP 濃度は有意に増加したが、LPS はこの ATP 濃度増加を抑制した。以上のことから、*C. koseri* は増殖に伴って産生される ATP を介して樹状細胞を刺激し、IL-33 産生を誘導することが示唆された。一方、*C. koseri* の LPS は樹状細胞の増殖を抑えることで IL-33 の産生を抑制す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。

P3-36 *Citrobacter koseri* induces IL-33 production in dendritic cells through ATP production

○Kataoka H, Mori T, Into T

Dept Oral Microbiol, Fac Dent, Asahi Univ

Purpose: Food allergy is thought as an intestinal immune dysfunction elicited by dysbiotic gut microbiota. We previously reported that *Citrobacter* species, which have propagated in the feces of mice with food allergy, were found to worsen allergic symptoms by inducing IL-33 production in intestinal epithelial cells. On the other hand, dendritic cells can play important roles in the intestinal mucosal immune system. In this study, we therefore analyzed whether *Citrobacter koseri* induces IL-33 production in dendritic cells.

Materials & Methods: Bacterial LPS derived *C. koseri* JCM1658 was extracted by means of the phenol-water method. Expression of *Il33* in a DC2.4 mouse dendritic cell line was detected by real time PCR and IL-33 production was quantified by ELISA. ATP concentration in the culture supernatant was quantified with BacTiter-Glo Microbial Cell Viability Assay (Promega).

Results & Discussion: IL-33 production was induced by live bacteria of *C. koseri*, but not by extracted LPS in DC2.4. LPS reduced IL-33 production induced by live bacteria and DC2.4 proliferation. Live bacteria of *C. koseri* increased ATP concentration in the culture supernatant but LPS inhibited this increment. From the above, *C. koseri* increases IL-33 production through ATP production but LPS restricted the production by inhibiting dendritic cell proliferation.

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

P3-37 血清型 M49 型 *Streptococcus pyogenes* の CvfA は病原因子の発現と温度依存性の線毛産生に関与する

○窪田 星子, 中田 匡宣, 広瀬 雄二郎, 山口 雅也, 住友 倫子, 川端 重忠

阪大院歯 口腔細菌

Streptococcus pyogenes は血清型依存性に多様な線毛を分泌する。特定の線毛遺伝子領域を有する菌株は通常の培養温度で線毛を産生せず、低い培養温度で線毛を産生する。RNA 分解酵素である CvfA は温度変化に伴い莢膜の発現を調節することが示唆されてきた。本研究では、病原因子の発現と温度依存性の線毛産生に CvfA が関与するかについて検討した。血清型 M49 型菌株を親株として作製した *cvfA* 欠失株と野生遺伝型に復帰した菌株（復帰変異株）を 37°C もしくは 25°C で培養し、抗線毛抗体を用いたウェスタンブロット解析を行った。その結果、37°C で培養した全ての菌株で線毛は検出されなかった。一方、25°C での培養では、野生株および復帰変異株では線毛産生が認められたが、*cvfA* 欠失株による線毛産生量は減少した。したがって、CvfA は低温での線毛産生に関与することが示唆された。CvfA が RNA 分解酵素であることから、線毛産生の制御因子をコードする mRNA やノンコーディング RNA を分解する可能性が考えられた。次に、ヒツジ脱繊維血を含む寒天培地上で各菌株を 37°C もしくは 25°C で培養し、溶血能を比較した。37°C では各菌株間に溶血能の差は認められなかった一方、25°C では、野生株および復帰変異株と比較して、*cvfA* 欠失株の溶血能は上昇した。さらに、両温度で対数増殖期まで培養した各菌株をヒト全血と混和し、経時的に生存菌数を検討したところ、野生株および復帰変異株と比較して、*cvfA* 欠失株は培養温度に関わらず低い生菌率を示した。これらの結果から、CvfA は初発感染部位である皮膚や上気道の温度を反映する低温で線毛産生の亢進と溶血毒素産生の抑制に関与し、血清型 M49 型 *S. pyogenes* の血中での生存に重要な役割を果た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。

P3-37 CvfA required for virulence factor expression and thermosensitive pilus production by serotype M49 *Streptococcus pyogenes*

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

Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Streptococcus pyogenes produces diverse pili depending on the serotype, with a subset of *S. pyogenes* strains known to exhibit pilus production at low temperatures. The RNase CvfA has been reported to regulate capsule synthesis in a temperature-dependent manner. In this study, we investigated the role of CvfA in regulation of virulence factor expression and thermoregulation of pilus production. A deletion mutant strain of *cvfA* and revertant strain with a serotype M49 strain background were constructed. Immunoblot analysis of all tested strains cultured at 37°C detected no pilus production. However, when cultured at 25°C, the mutant strain produced fewer pilus proteins as compared to the wild-type and revertant strains. These results suggest that CvfA may cleave mRNA coding a repressor of pilus production or non-coding RNA. In cultures with THY agar containing defibrinated sheep blood, hemolysis activity of the mutant strain was greater than that of the wild-type and revertant strain when cultured at 25°C, but not at 37°C. Also, deletion of *cvfA* compromised the ability to survive in human blood, regardless of culture temperature. These results indicate involvement of CvfA in pilus production promotion and hemolysin production repression at low temperatures, reflecting the initial infection site.

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

P3-38 歯周病の病態形成に関与する T 細胞抗原の探索

○成田 由香¹, 永尾 潤一^{1,2}, 有田 (森岡) 健一^{1,2}, 田崎 園子¹, 根来 (安松) 香奈江¹, 田中 芳彦^{1,2}

¹福歯大 感染生物, ²福歯大 口腔医学研究セ

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、および歯周病の病態形成には Th17 細胞が関与することがあきらかになっている。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。我々はこれまでに、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原細菌 3 種である *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* および *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 IL-17A 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てきた。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 細胞サブセットである Th17 細胞への分化誘導を評価し、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ている。マウス歯周病モデルを用い、細胞増殖により Red complex 細菌菌体成分の評価を行なったので報告する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P3-38 Exploration of T cell antigens of red complex bacteria causing periodontal disease in mice

○Narita Y¹, Nagao J^{1,2}, Arita-Morioka K^{1,2}, Tasaki S¹, Negoro-Yasumatsu K¹, Tanaka Y^{1,2}

¹Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll; ²Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll

Periodontal disease is a chronic 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 IL-17A-producing Th17 cells exist in the oral cavity of periodontal disease patients, and periodontal pathogens themselves are considered as antigens in Th17 cell differentiation. However, there is a little known about T cell antigen of periodontal bacteria inducing immune response of Th17 cells. Therefore, we conducted a comprehensive analysis how Red complex bacteria, affected Th17 cell differentiation. We divided red complex bacteria into several components to explore periodontal pathogen's antigens in Th17 cell differentiation. Indeed, we used bone marrow-derived dendritic cells as an antigen presenting cell while using fractionated bacterial components as antigens, and stimulated CD4⁺T cells isolated from periodontal bacteria immunization mice to differentiate into antigen specific Th17 cell in vitro. We identified T cell antigen candidates for inducing Th17 cell differentiation in mice periodontal model.

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

P3-39 *Porphyromonas gingivalis* の生育を特異的に阻害する *Gemella haemolysans*

○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

溶血活性を持つ口腔細菌は、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。歯周病患者では、健常者と比べて一部の溶血性グラム陽性菌が減少することが報告されているが、その直接的な関係性は明らかになっていない。本研究の目的は、唾液中に含まれる溶血性細菌の歯周病細菌への影響を調べ、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、溶血帯を確認したところ、両サンプルから多くの強い溶血性を持つ細菌が分離された。16S rRNA 遺伝子の塩基配列の解析により、溶血活性を示した細菌の多くが *Gemella* 属に分類される細菌であることが明らかとなった。本実験では、*Gemella sanguinis*, *Gemella haemolysans*, *Gemella morbillorum* の3菌種が同定された。この3菌種において、歯周病患者と健常者の唾液中に含まれる割合を定量的PCR解析で調べた結果、健常者の唾液中で *G. haemolysans* が有意に上昇していることが示された。さらに、*G. haemolysans* は、*Porphyromonas gingivalis* の生育を阻害することが可能であった。また、この生育阻害は、*G. haemolysans* の培養上清に含まれる熱失活性のタンパク質成分によって引き起こされることが明らかとなった。以上の結果から、*G. haemolysans* は、分泌タンパク質を介して、歯周病細菌 *P. gingivalis* の生育を直接的に抑制し、健康な口腔内環境維持に関わっていると考えられる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P3-39 *Gemella haemolysans* specifically inhibits the growth of *Porphyromonas gingivalis*

○Miyoshi T¹, Yoshinari N², Yoshida A¹

¹Dept Oral Microbiol, Matsumoto Dent Univ; ²Dept Periodont, Matsumoto Dental 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 author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

P3-40 *Streptococcus gordonii* の貪食は単球を樹状細胞へと分化誘導する

○田代 有美子, 才木 桂太郎, 山中 幸, 石川 結子, 林田 尚斗, 古西 清司, 高橋 幸裕

日歯大 生命菌 微生物

【目的】 口腔レンサ球菌の一種である *Streptococcus gordonii* は口腔における菌垢形成やそれに続く歯肉炎の発症に関与しているのみならず, 感染性心内膜炎の原因菌としても知られている. これまでの研究で, *S. gordonii* がシアル酸結合性アドヘジン Hsa を介して血小板や赤血球, 好中球, 単球といった血液細胞に付着することが明らかとなっている. また, 単球に *S. gordonii* が付着すると樹状細胞へと分化することも明らかとなっている. これらの現象は *S. gordonii* による感染性心内膜炎の発症に関与していると考えられる. そこで本研究では, *S. gordonii* による単球の樹状細胞分化の誘導メカニズムの解析をおこなった.

【方法】 *S. gordonii* DL1 または殺菌処理をおこなった *S. gordonii* (HK-SG や PFA-DL1), *S. gordonii* の細胞壁タンパク質 (SG-CWP) を THP-1 細胞と混合し, 48 時間後の樹状細胞マーカー (CD83, CD86, IL-12p40) の発現を RT-PCR 法を用いて解析した. また, *S. gordonii* DL1 または HK-SG を THP-1 細胞と混合し 2 時間後にギムザ染色をおこなうことで, THP-1 細胞と菌体の相互作用を確認した.

【結果】 多量の *S. gordonii* DL1 や殺菌処理をした菌体を暴露した THP-1 細胞では CD83, CD86, IL-12p40 発現上昇がみられた. しかしながら, SG-CWP を処理した THP-1 細胞ではこれらの発現上昇は認められなかった. また, ギムザ染色の結果より菌体が THP-1 細胞へ付着しているだけでなく, 細胞内へ取り込まれている様子も見られた.

【考察】 これらの結果から, 単球から樹状細胞へ分化が誘導される起因は菌体が単球に付着することではなく, 多量の菌が単球に貪食されることだと考えられる.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

P3-40 THP-1 monocytes differentiate into dendritic cells after engulfment of *Streptococcus gordonii*

○Tashiro Y, Saiki K, Yamanaka Y, Ishikawa Y, Hayashida N, Konishi K, Takahashi Y

Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent Tokyo

Objectives: *Streptococcus gordonii* is component of the human oral microflora. In addition, *S. gordonii* is the most frequently identified bacteria as primary etiological agents of infective endocarditis. Our previous study showed that *S. gordonii* surface protein Hsa is important for *S. gordonii* to bind to host blood cells such as platelets, erythrocytes, neutrophils, and monocytes. In addition, we showed that monocytes interacted with *S. gordonii* rapidly undergo monocyte-to-dendritic cell (DC) differentiation. It is considered that this response may be the initial step in infective endocarditis. In this study, we investigated the mechanism of differentiation of monocytes into DC following interaction with *S. gordonii*.

Methods: THP-1 cells were exposed to *S. gordonii* DL1, heat-killed *S. gordonii* (HK-SG or PFA-DL1), and *S. gordonii* cell wall protein (SG-CWP) for 48 h, and the expression levels of DC markers CD83, CD86, and interleukin-12 were quantified using RT-PCR.

Results: Exposure of THP-1 to high dose *S. gordonii* DL1 induced up-regulation of the expression of CD83, CD86, and interleukin-12. In contrast, the treatment with SG-CWP weakly induced the expression of the DC markers.

Conclusion: These data show that monocyte-to-DC differentiation occurs when monocytes engulf *S. gordonii*.

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

P3-41 口腔 *Veillonella* におけるフルクトース代謝経路の探索

○眞島 いづみ^{1,2}, 中澤 太³, 玉井 利代子¹, 清浦 有祐¹

¹奥羽大 歯 口腔感染免疫, ²愛院大 薬 微生物, ³インドネシア大 歯 口腔生物

【目的】 *Veillonella* 属細菌はヒト口腔内優勢細菌であり, これまでは乳酸を唯一のエネルギー源として, 短鎖脂肪酸である酢酸とプロピオン酸を産生することが報告されていた。

しかし近年の我々の研究成果から, *Veillonella* 属細菌が糖代謝経路に関連する遺伝子群を保存していることが初めて明らかになり, 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された。本研究では, これら糖代謝経路が実際に機能しているかを明らかにするため, 新菌種候補株を含めた口腔 *Veillonella* 全菌種に対して, フルクトースを基質とした際の終末代謝産物の解析を行った。

【方法】 TYH 液体培地を基本培地とし, それぞれ 1% フルクトース, 1% 乳酸ナトリウムもしくは両者を添加した培地を用いて, 口腔 *Veillonella* 全菌種標準株の増殖曲線を解析した。また同時に培養上清の pH 推移を追い, pH 値が最下点を示した各培養上清中の終末代謝産物を HPLC 解析した。

【結果】 フルクトースは殆どの菌種においてその増殖を抑制せず, 乳酸と共基質となることで, 乳酸単基質よりも培養上清の pH 値は低下した。また, *V. tobetsuensis* 以外では, 共基質時において, 乳酸単基質時よりも多くの酢酸とプロピオン酸を産生し, 更にギ酸や酪酸の産生も認められた。

【考察】 本研究の結果から, 口腔 *Veillonella* が, 特に乳酸存在下においてフルクトースをエネルギー源として利用することが, 初めて明らかになった。

近年, *Veillonella* 属細菌の乳酸利用による短鎖脂肪酸の産生がヒトの運動量を増大させることや, 細菌の産生する短鎖脂肪酸が健康の指標となることが報告された。本研究により, フルクトース等の基質を制御することで, 今後 *Veillonella* 属細菌を, プロバイオティクスとして応用できると考えられる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P3-41 Exploring of a fructose glycolysis pathway in *Veillonella* spp

○Mashima I^{1,2}, Nakazawa F³, Tamai R¹, Kiyoura Y¹

¹Div Oral Infect Immun, Sch Dent, Ohu Univ; ²Dept Microbiol, Sch Pharm, Aichi-Gakuin Univ; ³Dept Oral Biol, Sch Dent, Univ Indonesia, Indonesia

It has been reported that the genus *Veillonella* utilize lactate as an energy source to produce short chain fatty acids (SCFAs). However, recent results of our study showed the possibility of utilizing other carbohydrates as their energy source in addition to lactate. Thus, the goal of this study was to determine if SCFAs metabolic end products from fructose may serve as a substrate for glycolysis in *Veillonella* spp.

Type strains of oral *Veillonella* spp. were cultured in TYH medium containing 1% fructose with or without 1% L-sodium lactate and TYH containing 1% L-sodium lactate alone. The OD₆₀₀ of each culture was measured to determine the growth rate. At the time of the lowest pH of the supernatants indicated, SCFAs in the supernatants were analyzed by HPLC.

Results showed that fructose didn't inhibit the growth of almost *Veillonella* strain cultured with lactate. The pH shifted lower when *Veillonella* were cultured with fructose and lactate compared to lactate alone. Based on HPLC data, oral *Veillonella* spp., except *V. tobetsuensis*, cultured with fructose and lactate produced more acetic and propionic acids than with lactate alone.

These findings suggest that glycolysis in oral *Veillonella* may utilize fructose as substrate, especially along with lactate.

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

P3-42 *Fusobacterium nucleatum* による呼吸器上皮細胞とマウス下気道からの炎症性サイトカイン誘導

○高橋 佑和^{1,2}, 今井 健一²

¹日大 歯 補綴 I, ²日大 歯 細菌

【目的】 歯周病原菌と肺炎との関連は以前から知られているが、最近、歯周病が慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の増悪因子であることが欧米のみならず我が国でも報告された。COPD は肺胞が破壊された肺気腫と慢性気管支炎の総称で、世界の死因第3位となっている。口腔ケアが肺炎のみならず COPD の予防に有効との報告があることから、歯周病が下気道の炎症惹起に深く関与していることが考えられるが、その機序は不明である。そこで、誤嚥した口腔細菌が下気道に作用し肺炎の発症と COPD の増悪に重要な役割を演じる炎症性サイトカインを誘導するのではないかと考え本研究を行った。

【方法】 呼吸器上皮細胞に種々の細菌を添加、またマウスに菌を誤嚥させた後、解析を行った。

【結果と考察】 *P. gingivalis* を種々の細胞に添加した結果、好中球浸潤や組織破壊等に関わる IL-8 と IL-6 の産生が強く誘導された。*F. nucleatum* や *T. forsythia* 等によってもサイトカインは誘導されたが、その量は肺炎球菌によるものと比較し数倍以上高かった。同様の結果は、プライマリー細胞においても認められた。さらに、特に *F. nucleatum* はマウスの下気道においてサイトカイン産生を強力に誘導した。肺炎と COPD は共に高齢になるほど罹患率が高まる。口腔機能が低下している高齢者は慢性的に唾液を誤嚥しているため、歯周病原菌が IL-8 等の誘導を介して下気道の炎症に直接的に関与していると考えられた。既に、我々は、歯周病原菌が肺炎起因菌のレセプターの発現を誘導することを見出しており、これらのことから下気道の炎症抑制には口腔細菌のコントロールが重要であると考えている。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P3-42 The periodontopathic bacterium *Fusobacterium nucleatum* induced proinflammatory cytokine production in the lower respiratory organs in mice

○Takahashi Y^{1,2}, Imai K²

¹Dept Complete Denture Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent

COPD, a non-infectious disease, is the third leading cause of death globally. Although a positive association has recently been revealed between chronic periodontitis and COPD, how periodontitis contributes to the pathogenesis of COPD remains unclear. Therefore, we hypothesized that some periodontopathic bacteria are involved in the exacerbation of COPD through the induction of proinflammatory cytokine production by respiratory epithelial cells. Results: Some, but not all, periodontopathic bacteria, especially *F. nucleatum*, strongly induced IL-8 and IL-6 production by bronchial epithelial cells. In addition, *F. nucleatum* induced IL-8 production by alveolar epithelial cells as well as IL-8 and IL-6 production by pharyngeal epithelial cells. Furthermore, *F. nucleatum* induced considerably higher cytokine production than *S. pneumoniae*. This was also observed in the entire lower respiratory organs and serum in mice. Conclusion: Exposure to increased number of *F. nucleatum* potentially induces proinflammatory cytokine production by human bronchial and pharyngeal epithelial cells, which may trigger exacerbation of COPD.

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

P3-43 血管内皮細胞における血管新生因子発現に対する細菌リポ多糖の影響○石河 太知¹, 下山 佑¹, 古玉 芳豊¹, 小笠原 正人², 佐々木 実¹¹岩医大 歯 分子微生物, ²岩医大 歯 薬理

子癩前症は妊娠中に高血圧やタンパク尿を特徴とする深刻な妊娠合併症であり、胎盤内血管の狭小化により、胎児への栄養素と酸素の供給が阻害される。そのことが胎児の成長を妨げ、低出生体重や早産を引き起こすと考えられている。このプロセスにおいて、血管内皮増殖因子 A (VEGF-A), Fms 関連受容体チロシンキナーゼ 1 (FLT-1), 可溶性 FLT-1 などの血管新生に関連する因子が関与していると示唆されている。一方、歯周病と低出生体重または早産との相互作用についていくつかの報告があり、歯周病に罹患している妊婦の場合、低出生体重および早産のリスクが高くなることが指摘されている。またこれらの報告の多くは、歯周病原細菌による炎症反応が血流を介して全身に波及するために低出生体重または早産を引き起こすと示唆している。しかしながら、歯周病原細菌と血管新生に関連する因子との関係は未だ解明されていない。そこで本研究では、細菌 LPS (*Escherichia coli* または *Porphyromonas gingivalis* に由来) で刺激されたヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) の血管新生に関わる因子 (VEGF-A, VEGF-B, またそれらの受容体である FLT-1, KDR) の mRNA 発現を、定量的逆転写リアルタイム PCR で検討した。その結果、細菌 LPS で刺激された HUVEC 内で VEGF-B や KDR の mRNA に有意な変化は認められなかったが、VEGF-A や FLT-1 の mRNA 発現が変化したことを示した。これらの結果は、細菌由来の LPS が血管新生に関わる因子の発現を変化させることにより、低出生体重または早産に関与している可能性を示し、歯周病とこれら疾患の発症メカニズムを解明する一助になると考えられる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

P3-43 The effect of bacterial lipopolysaccharide on the expression of angiogenic factors in HUVEC○Ishikawa T¹, Shimoyama Y¹, Kodama Y¹, Ogasawara M², Sasaki M¹¹Div Mol Microbiol, Sch Dent, Iwate Med Univ; ²Dept Pharmacol, Sch Dent, Iwate Med Univ

Preeclampsia is a serious pregnancy complication, makes the blood vessels in the placenta thin and the supply of nutrients and oxygen to the fetus is obstructed, which impedes the growth of the fetus and causes preterm birth. In this process, it is thought that factors associated with angiogenesis such as vascular endothelial growth factor A (VEGF-A), Fms related receptor tyrosine kinase 1 (FLT-1) and soluble FLT-1 are involved in it. On the other hand, there are some reports about the interaction between periodontal disease and low birth weight or preterm birth. Many of these reports state that the inflammatory response causes low birth weight or preterm birth. However, the relation between periodontopathic bacteria and those factors associated with angiogenesis has not been elucidated. In this study, the mRNA expressions of angiogenic factors in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) stimulated with bacterial LPS (derived from *Escherichia coli* and *Porphyromonas gingivalis*), were investigated by quantitative reverse transcription real-time PCR. The results indicated that various mRNAs of angiogenic factors were changed in HUVECs stimulated with bacterial LPS. These results suggested that bacterial LPS may be involved in the low birth weight or preterm birth with the changed expressions of angiogenic factors.

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

PM1-01 歯の欠損と舌萎縮の相関関係について

○高木 貴博¹, 石東 叡¹, 北村 啓^{2,3}, 山本 将仁^{1,3}, 阿部 伸一^{1,3}

¹東歯大 解剖, ²東歯大 組織発生, ³東歯大 研究ブランディング事業

【目的】舌は他の口腔・咽頭器官と協調しながら運動することにより、嚥下や構音機能を担っている。これらの機能を保つためには舌形態の維持が不可欠であるが、近年舌萎縮が原因となる嚥下や構音障害が問題となっている。脳・中枢神経系疾患や筋萎縮性側索硬化症は舌萎縮の主な原因であるが、これらの疾患の既往がなくとも舌の形態には個人差がある。そこで、口腔内環境を変化させる最大の要因である歯の欠損に着目し、歯の欠損が舌萎縮を誘発させる可能性について検索を試みた。

【方法】試料として東京歯科大学市川総合病院を受診した患者 26 名の磁気共鳴画像 (MRI) ならびに、同大学解剖学講座所蔵の献体 3 体から採取した舌組織を用いた。MRI 画像は矢状断面を用い、頭頸部面積に対する舌面積の割合を算出した。また献体から舌組織を摘出後、肉眼観察を行い、通法にしたがい組織切片を作製し、内舌筋の筋線維数を算出した。患者の MRI ならびに献体は前歯の有無で 2 群に分け (Presence of anterior tooth (PA 群), Absence of anterior tooth (AA 群)), 統計学的分析を行った。

【結果】MRI の結果から PA 群の舌面積は AA 群と比べ大きく ($P < 0.0001$), また PA 群において固有口腔の面積が AA 群と比較すると小さかった ($P < 0.001$)。また舌尖部において PA 群では上下顎前歯部間に入り込んでいるのに対し、AA 群では舌尖部が後上方に位置していた。舌組織切片像では、HE 染色像における舌周径は PA 群の方が大きく、同部位をアザン染色で観察したところ AA 群の尖部における内舌筋の筋線維量の減少と共に結合組織の増加が観察された。さらに舌腱膜においても一部で菲薄化が認められた。

【考察】今回の結果を通して前歯部欠損は舌形態に大きな影響を与えると考えられた。さらに組織学的検索から、前歯部欠損により一部の内舌筋が結合組織に化生していることが示唆された。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

PM1-01 Correlation between missing tooth and tongue atrophy

○Takagi T¹, Ishiduka S¹, Kitamura K^{2,3}, Yamamoto M^{1,3}, Abe S^{1,3}

¹Dept Anat, Tokyo Dent Coll; ²Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll; ³Res Branding Project, Tokyo Dent Coll

Tongue atrophy, which results in dysphagia and dysarthria is primarily caused by central nervous system diseases. However, individual differences exist in tongue morphology even with no past history of such diseases. Therefore, we focused on missing teeth, which is the most important factor involved in altering the intraoral environment. This study aimed to determine whether missing teeth result in tongue atrophy. We used the magnetic resonance imaging (MRI) scans of 26 patients and 3 donated cadavers from Tokyo Dental College to perform morphometry of the tongue. These samples were divided into two groups based on the presence of anterior tooth as follows: presence of anterior tooth (PA group) or absence of anterior tooth (AA group). MRI findings revealed that the cross-sectional area of the tongue was larger in the PA group than in the AA group. The cross-sectional area of the oral cavity proper was smaller in the PA group than in the AA group. Histological sections showed that the circumference of the tongue was longer in the PA group than in the AA group. Therefore, absence of anterior tooth appears to have a significant impact on tongue morphology

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

PM1-02 高齢者の口腔機能維持向上を目指した口腔機能低下症の予防的アプローチ法の確立

○東 雅啓, 劉 宇豪, 高橋 聡子, 高橋 俊介, 松尾 雅斗

神歯大 院歯 口腔科学

超高齢社会である日本において、高齢者のQOLを下げる要因であるオーラルフレイルの対策が進んでいる。しかしながら、それ以上に機能低下を起こした口腔機能低下症は歯科診療所での専門的アプローチが必要となり、口腔機能の維持向上が重要である。そこで本研究では、口腔機能低下症に対する予防的アプローチ法の確立のために、口腔機能へのアプローチを3つ（1. 歯周組織, 2. 唾液腺, 3. 筋機能）に分けて検討し、口腔機能低下症の予防と機能回復を目的とした。運動機能低下の報告がある老齢ラット（F344/Jcl, 22カ月齢, ♂）を用いて、（1）歯周組織においては歯肉などの微小循環機能を評価するために血管鋳型法による解析、（2）唾液腺機能に関しては唾液成分の解析、（3）筋機能に関しては行動解析による運動機能の評価を行った。まず、オープンフィールドテストを用いた行動解析により運動能力の測定を行い、その後サンプリングし、口腔周囲や脳などの微小循環に関して形態学的に解析を行い、さらには唾液成分についても検討した（神奈川歯科大学実験動物倫理委員会承認番号第18-024番）。解析の結果、各ラットにおいて総移動距離の低下が認められたほか、歯肉や脳における微小循環が乏しいことが確認でき、唾液成分においても各種成分の変動が認められた。今後は各アプローチにおける機能低下を改善できる対策が口腔機能低下症予防にどのような効果を与えるか分析する。それにより、口腔機能低下症患者の抑制および高齢者の生活機能の維持向上を目指し、国民の健康長寿の延伸に繋げたい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM1-02 Establishment of preventative approach to oral hypofunction in elderly

○To M, Liu YH, Wada-Takahashi S, Takahashi SS, Matsuo M

Dept Oral Sci, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ

Since oral hypofunction causes further functional decline compared to oral frailty, a specialized approach in dental clinics is required in order to maintain and improve oral function in the elderly. In this study, we aimed to establish a preventative approach to oral hypofunction by examining the relationship of (1) periodontal tissue, (2) salivary gland, and (3) muscle function to oral function. Using aged rats (F344 / Jcl, 22 months old, males) with decreased motor function, we performed (1) analysis using the vascular template method to evaluate microcirculatory function in periodontal tissues, (2) analysis of saliva to evaluate salivary gland function, and (3) analysis by behavioral testing to evaluate muscle function. Motor ability was measured using the open field test and morphologically analyzed with respect to the microcirculation around the oral cavity and the brain. Salivary components were also examined. The results of the analyses showed a decrease in the total migration distance in each rat, poor microcirculation in the gingiva and brain, and changed in various salivary components. In the future, we aim to investigate whether a prevention method using each of these approaches would improve oral hypofunction.

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

PM1-04 慢性炎症は造血幹細胞の骨髄再構築能を低下させる

○林 慶和

福歯大 機能構造

血液産生（造血）は自己複製能と多分可能を持つ造血幹細胞（HSC）によって生涯にわたり維持されている。全ての血液細胞が造血幹細胞から作られており、造血幹細胞の自己複製、あるいは成熟細胞への分化という過程は、恒常性維持機構のもと厳密に機能制御されている。先行研究において、グラム陰性菌構成成分であるリポ多糖（LPS）の持続的投与により骨髄内の造血幹細胞の機能が損傷されることが明らかとなった。慢性炎症は時として組織損傷、臓器不全、癌などの有害な作用をもたらすことが知られているが、慢性炎症が造血幹細胞の機能にどのような影響を与えるかについてはよく分かっていない。さらに、LPSをはじめとした感染モデルでは一部のモデルを除き、急性炎症と慢性炎症を厳密に区別することが難しいと考えられている。そこで本研究では、慢性炎症モデルとして既に確立しているデキストラン硫酸ナトリウム（DSS）の繰り返し投与により誘導される慢性腸炎（IBD）モデルを用いて、慢性腸炎が造血制御に与える影響について解析を行った。慢性腸炎マウスから採取した骨髄細胞を放射線照射したレシピエントマウスに移植し、末梢血および骨髄のドナーキメリズムについて解析したところ、1次移植、2次移植ともに、慢性腸炎由来の骨髄細胞を移植したマウスでは、長期にわたる骨髄再構築能の顕著な低下を認めた。この結果から慢性腸炎が造血幹細胞の機能を損傷させることが示唆された。また、慢性腸炎誘導1ヶ月後にLPSを投与し、慢性炎症が造血応答に与える影響について評価したところ、LPSは通常、造血幹細胞の骨髄外への遊走を誘導するが、慢性腸炎マウスではそのような反応が認められず、LPSに対する造血応答を顕著に減弱させた。この結果から、慢性炎症は造血機能の炎症応答を変容させることが示唆された。以上の結果から、慢性炎症が炎症に対する造血応答を変容させ造血幹細胞の機能を低下させ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。

PM1-04 Chronic inflammation impairs reconstitution capacity of hematopoietic stem cells

○Hayashi Y

Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll

Adult hematopoietic stem cells (HSCs) continuously self-renew and differentiate into all blood lineages through intermediate progenitor cells to sustain lifelong hematopoiesis. Although HSCs divide very infrequently and are mostly dormant in steady-state bone marrow (BM), they can be activated to enhance mature blood cell production upon hematopoietic challenges such as inflammation. However, it remains unclear how HSCs integrate the peripheral organ-derived demand signal to hematopoietic production and what the biological consequence of HSC activation is on their cell fate decision. The previous paper has shown that repetitive challenges of lipopolysaccharide (LPS), a component of gram-negative bacteria, causes HSC dysfunction through direct activation of Toll-like receptor (TLR) 4 signaling and the resulting proliferative stress. In this study, we employed the mouse colitis model, where repeated administration of dextran sulfate sodium (DSS) has been reported to induce chronic gut inflammation, and which resembles the pathogenesis of human inflammatory bowel disease (IBD). Chronic gut inflammation hampers HSC function by reducing their repopulation ability upon transplantation and their immune response against subsequent infectious challenges such as LPS re-challenge post chronic inflammation. Our findings suggest chronic inflammation reduces the functionality of long-lived HSCs, which might be relevant to aging-associated chronic disorders.

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

PM1-05 損傷した歯周靭帯は C57BL / 6J マウスにおいて三叉神経中脳路核と運動核の神経変性を誘発する

○Dhar Ashis, 倉本 恵梨子, 岩井 治樹, 山中 淳之, 後藤 哲哉

鹿大院医歯 機能形態

PM1-05 The damaged periodontal ligament induces trigeminal mesencephalic and motor nuclei neurodegeneration 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 Sci

Purpose: Trigeminal mesencephalic nucleus (Vmes) are the homologous mechanoreceptor neurons, resided in the dorsal-root ganglion to trigeminal ganglion and gives off a united stem axon as well as bifurcated into peripheral and central main axons. Vmes neurons innervating periodontal mechanoreceptors play an important role in masticatory control. After tooth loss, mechanoreceptors disappear due to periodontal defects. 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: Wild-type mouse (C57BL/6J) 8 weeks old bi-maxillary molars were extracted under anesthesia. Immunofluorescence staining was performed using primary antibodies against Piezo-2, ATF3, Caspase 3, ChAT and TDP43. Fluro-gold (FG) was injected into tooth socket after extraction and masseter muscle retrograde labeling and adeno associated viruses (AAV), biotinylated dextran amine (BDA) was injected into Vmes directly for anterograde labeling. All experimental protocols involving mice were approved by the Animal Care Committee of Kagoshima University.

Results: Five days after tooth extraction, damaged ATF3 IR Vmes neurons appeared and it observed mostly on the caudal part, number increased on day 5 but decreased on day 10. Caspase 3 IR death Vmes neurons increased in caudal part 7 and 12 day cases. Both tracer injections provided predictive evidence of Vmes-periodontal ligament projection. The average size of FG IR Vmes neurons projected into the alveolar was smaller than that of the masseter muscle. One month after tooth extraction, the total number of Vmes neurons was significantly less than that of control mice ($p < 0.05$). Vmo neuron in experimental mice revealed a gradual loss of TDP 43 IR neurons at 1 month after tooth extraction and full appearance at 6 months. At 1 month, partial damage of TDP 43 Vmo was 4%, but increased by 6 months (19%).

Conclusion: In conclusion, due to periodontal connectivity with the Vmes neurons, tooth extraction causes Vmes neuronal degeneration with in a week and destroying Vmo in a month because of Vmes-Vmo neuronal connectivity in C57BL/6J mice.

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

PM1-06 胆道閉鎖症患児由来乳歯幹細胞の細胞移植治療効果を制御する機序の解析

○園田 聡一郎, 村田 早羅, 加藤 大樹, 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, 新生児期に発症する, 肝外胆管閉鎖を原因とする胆汁うっ滞性疾患であり, 肝移植が必要となる患者が多い. 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 BA 患児由来乳歯幹細胞 (BA-SHED) を経脾的に投与し, 健常児由来乳歯幹細胞 (SHED) の移植効果との比較解析を行い, 前回大会で報告した. SHED 同様, BA-SHED は肝機能の改善および線維化の消退をもたらしたが, BA-SHED 移植群では血中総ビリルビン値の改善および胆管組織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. 本研究では, BA-SHED を用いた自家細胞移植を可能とするために, BA-SHED の移植効果低下の機序を解析した.

【方法】BA 患児由来の SHED を単離した. *In vitro* にて肝細胞分化誘導を行い, 遺伝子発現解析および生化学的解析, 組織学的解析により SHED と BA-SHED の分化能を比較した. また, 胆道上皮細胞分化の方向づけに重要な転写因子である HNF6 の発現を未分化な SHED および BA-SHED で比較した.

【結果】BA-SHED は, *in vitro* にて肝細胞様細胞への分化を示し, SHED との差は認められなかった. しかし, SHED と比較して BA-SHED は未分化な状態で HNF6 の発現が上昇していた.

【考察】HNF6 は肝前駆細胞において肝細胞・胆道上皮細胞の分化を方向づける転写因子であり, その過剰発現が胆道上皮細胞分化を抑制することが報告されている. BA-SHED 移植群では胆管組織の再生が認められなかった事実を踏まえると, BA-SHED では HNF6 の過剰発現により胆道上皮細胞への分化が抑制されている可能性が考えられる. 今後, BA-SHED の HNF6 過剰発現が胆道上皮細胞の分化へ与える影響を解析する必要がある.

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する.

PM1-06 Analyzing a mechanism that causes downregulated therapeutic effects of biliary atresia patient-derived-stem cells from human exfoliated deciduous teeth

○Sonoda S, Murata S, Kato H, Kyumoto Y, Uehara N, Kukita T, Yamaza T

Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

Purpose: Biliary atresia (BA) is a cholestatic disease caused by bile duct obstruction. Although many patients result in receiving a liver organ transplantation, there are not enough donors. Therefore, it is needed to suppress fibrosis in the pre-transplantation period. In the previous report, we showed that transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) and BA patient derived-SHED (BA-SHED) ameliorated hepatic functions and suppressed hepatic fibrosis in a liver fibrosis mouse model. However, BA-SHED transplanted mice's liver did not show recovering of serum total bilirubin levels and regeneration of bile duct structures in contrast to SHED. In this study, we analyzed a mechanism that downregulates the therapeutic effects of BA-SHED transplantation.

Methods: We cultured BA-SHED in the hepatic differentiating condition and analyzed *in vitro* hepatic differentiation capacity. Finally, we assessed HNF6 expression in intact BA-SHED compared to SHED.

Results: BA-SHED exhibited a differentiation capacity into hepatocyte-like cells *in vitro* as well as SHED. On the other hand, intact BA-SHED expressed higher levels of HNF6 than intact SHED.

Conclusion: A previous study reported that overexpression of HNF6 suppressed the biliary commitment of hepatoblast. Regarding these facts, the biliary cell differentiation capacity might be downregulated in BA-SHED by HNF6.

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

PM1-07 BMP9 誘導性骨芽細胞分化における Notch エフェクター分子 Hes1 の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 顎顔面外科, ²鹿大 院医歯 口腔生化

PM1-07 Bone morphogenetic protein 9 (BMP 9) induces the expression of Hes1 in osteoblasts: Analyses of its molecular mechanisms and functional roles

○Seong CH^{1,2}, Ohnishi T², Chiba N², Matsuguchi T²

¹Dept Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci; ²Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

Purpose: 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 details of BMP9-induced molecular events in osteoblast have 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, we investigated the molecular mechanisms of Hes1 induction by BMP9 in osteoblasts.

Materials & 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 promoted or inhibited by Tet-on inducible expression system into osteoblasts.

Results: Stimulating osteoblasts with BMP9 induced periodic increases of Hes1 mRNA expression levels. Pretreatment with BMP receptor inhibitor significantly suppressed BMP9-induced Hes1 expression in osteoblasts. Notably, the expression of osteogenic differentiation markers was affected by Hes1 or Dominant-negative Hes1 overexpression in BMP9-stimulated osteoblasts.

Conclusion: BMP9 directly induces Notch effector molecule Hes1 through the SMAD signaling pathway which is known as the canonical signal of BMPs. This study also provides novel insights into the more effective bone regeneration therapy with BMP9 by further identifying the signaling pathway of BMP9 and the functional role of Hes1.

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

PM1-08 Dectin-1 を介したパン酵母 β -グルカンによる破骨細胞形成の抑制メカニズム

○原 詩歌¹, 有吉 渉², 山崎 亮太², 吉岡 香絵²

¹九歯大 口腔機能発達, ²九歯大 感染分子生物

これまでの研究において、破骨細胞前駆細胞が特定の糖鎖構造を認識して破骨細胞の分化や骨吸収活性を修飾することが証明されている。その中で β -glucanである curdlan が、破骨細胞前駆細胞をはじめ樹状細胞やマクロファージに特異的に発現している受容体 dectin-1 を介して、破骨細胞分化を抑制することを明らかにしている。本研究では curdlan 以外の β -glucan の破骨細胞分化修飾能を評価するために、マウス骨髄細胞より誘導した破骨細胞前駆細胞に対して、破骨細胞分化因子 (RANKL) 及び Glucan from baker's yeast を添加して培養を行った。TRAP 染色を用いて破骨細胞形成数を評価したところ、Glucan from baker's yeast 添加群で RANKL 誘導下の破骨細胞分化が著明に抑制された。さらに、Glucan from baker's yeast は、破骨細胞の細胞増殖に影響することなく、RANKL 誘導下の破骨細胞形成を濃度依存的に抑制することが示された。その分子メカニズムとして、NFATc1 発現抑制と、それに伴う破骨細胞関連マーカー遺伝子の TRAP, Oc-stamp の発現の抑制が関与することが示唆された。この Glucan from baker's yeast による NFATc1 の負の制御は、dectin-1 を介する RANKL による破骨細胞分化関連分子の c-fos の発現の抑制、NF- κ B の活性化の抑制、破骨細胞分化抑制因子 Irf8 の発現回復、さらに上流因子の Blimp1 の発現抑制が関与していることが示唆された。また、Glucan from baker's yeast 添加は dectin-1 直下のシグナル分子である Syk タンパクの発現を減少し破骨細胞分化抑制に関与していることが示唆された。さらにこの Syk タンパクの分解はユビキチンプロテアソーム経路とオートファジー経路の両方を介している結果が得られた。今後は Glucan from baker's yeast による dectin-1 を介した破骨細胞分化抑制に関する分子メカニズムについてさらなる解析を予定している。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM1-08 Inhibition mechanism of osteoclast formation by glucan from baker's yeast mediated by dectin-1

○Hara S¹, Ariyoshi W², Yamasaki R², Yoshioka Y²

¹Div Pediatr Dent, Kyushu Dent Univ; ²Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ

Previous studies have revealed that the dectin-1 agonist curdlan suppresses osteoclast differentiation. In this study, in order to evaluate the ability of glucan from baker's yeast to modify osteoclast differentiation, receptor activator of NF- κ B ligand were added to osteoclast precursor cells derived from mouse bone marrow cells and cultured. In TRAP staining, RANKL-induced osteoclast differentiation was suppressed in a concentration-dependent manner by glucan from baker's yeast stimulation. In conjunction, RANKL-induced NFATc1 expression was suppressed, subsequently downregulating TRAP and Oc-stamp. Additionally, NF- κ B activation and the expression of c-fos and Blimp1 were reduced in dectin-1-overexpressing RAW264.7 cells. Furthermore, glucan from baker's yeast induced the degradation of Syk protein, essential factor for osteoclastogenesis. Furthermore, it was found that degradation of Syk protein is mediated by both ubiquitin proteasome pathway and autophagy pathway. In the future, we plan to further analyze the molecular mechanism of dectin-1 mediated inhibition of osteoclast differentiation by glucan from baker's yeast.

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

PM1-09 骨吸収が破骨細胞へ与える影響について

○大熊 理紗子, 唐木田 丈夫, 山越 康雄

鶴大 歯 生化学

【背景】 正常な骨量を保つためには、破骨細胞によるカップリング機構が働かなければならない。この機構を調節する因子は、骨吸収によって産生または活性化され、骨形成を促進するような働きをする因子であると考えられている。近年、骨吸収によって放出された骨基質中のトランスフォーミング成長因子ベータ (TGF- β) が骨芽細胞前駆細胞に作用し、骨形成を促進することが報告されているが、破骨細胞自身への影響はまだ明らかにされていない。

【目的】 我々は骨吸収によって放出された TGF- β が破骨細胞自身に与える影響を調べることを目的とした。

【材料・方法】 LTGF- β を共有結合させたリン酸カルシウムコーティングプレートを用いて、マクロファージ系の RAW264 細胞を可溶性の RANKL とともに培養し、破骨細胞へと分化させ、以下の検討を行った。TRAP assay 及び TRAP 染色によって破骨細胞への分化を測定・観察した。Pit assay を行い、分化した破骨細胞の骨吸収活性を測定した。骨吸収後のプレートに抗 TGF- β 抗体を用いた蛍光免疫染色を行い、吸収窩内の TGF- β について観察を行った。

【結果・考察】 TRAP assay では、RANKL 添加 3 日後に TRAP 活性が最大になり、4 日後には減少していた。同様に、TRAP 染色での組織的観察においても、RANKL 添加 3 日後において、破骨細胞特有の組織像を示した。Pit assay では、LTGF- β 含有のプレートは対称群と比較し、骨吸収の割合が有意に高かった。蛍光免疫染色では、吸収窩内の TGF- β が骨吸収によって減少していることが確認された。以上の結果より、破骨細胞は骨吸収によって TGF- β を取り込み、破骨細胞自身を活性化させていることが示唆された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM1-09 Effects of bone resorption on osteoclasts

○Chiba-Ohkuma R, Karakida T, Yamakoshi Y

Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

Background: In order to maintain normal bone mass, the coupling mechanism by osteoclasts must work. The transforming growth factor beta (TGF- β) released by bone resorption is believed to act on osteoblasts, but its effect on osteoclasts itself is not clear.

Our objective: is to investigate the effect of TGF- β released by bone resorption on osteoclasts themselves.

Methods: Using a plate to which LTGF- β was covalently bound, RAW264 cells were cultured with soluble RANKL to differentiate into osteoclasts. Differentiation into osteoclasts was measured and observed by TRAP assay and TRAP staining. Pit assay was performed to measure the bone resorption activity of differentiated osteoclasts. The plate after bone resorption was subjected to Immunofluorescence staining with an anti-TGF- β antibody.

Results and Discussion: TRAP activity became maximum 3 days after addition of RANKL. Similarly, in the TRAP staining, a tissue image peculiar to osteoclasts was shown 3 days after the addition of RANKL. In the Pit assay, the plate containing LTGF- β had a significantly higher rate of bone resorption than the control group. Immunofluorescence staining confirmed that TGF- β in the resorption pit was reduced by bone resorption.

Conclusion: Osteoclasts take up TGF- β by bone resorption and activate osteoclasts themselves.

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

PM1-10 ゾレドロン酸による末梢血単球の破骨細胞分化抑制

○瀧本 玲子¹, 田中 元博^{1,2}, 山田 篤², 宮本 洋一², 笹 清人², 須澤 徹夫², 吉村 健太郎²,
高見 正道³, 上條 竜太郎²

¹昭大 歯 顎顔面口外, ²昭大 歯 口腔生化, ³昭大 薬理科学研究セ

ビスホスフォネート (BP) は骨に特異的に集積し, 成熟した破骨細胞 (OC) のアポトーシスを誘導することで骨吸収を抑制する。一方, ゾレドロン酸 (ZOL) などの窒素含有 BP は, 投与後1から2日以内に, γ Δ T 細胞依存的に発熱などの急性期反応を起こすことが知られている。これは, 窒素含有 BP が, 成熟 OC に作用するばかりでなく, 末梢血中の種々の細胞と反応することを示唆する。今回, ヒト末梢血の単核球画分 (PBMC) を ZOL と反応させた後, 網羅的に遺伝子発現解析を行ったところ, ZOL は, 炎症性サイトカイン類に加え, OC 分化抑制性の転写因子である IRF8 遺伝子の発現を誘導した。そこで, OC 前駆細胞である単球 (CD14⁺ 細胞) をヒト 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 遺伝子の発現上昇が観察された。共存させる PBMC から γ Δ T 細胞を除くと, CD14⁺ 細胞における IRF8 の発現は上昇しなかったことから, ZOL は, γ Δ T 細胞依存的に CD14⁺ 細胞の IRF8 発現を促進すると考えられた。さらに, ZOL は RANKL 依存的なヒト CD14⁺ 細胞の OC 分化を抑制した。ZOL による OC 分化抑制は, PBMC から γ Δ T 細胞を除去することで減弱した。さらに, CD14⁺ 細胞に IRF8 の siRNA を導入したところ, ZOL の OC 分化抑制効果は低下した。ZOL は骨に集積し, 破骨細胞の酸分泌に依存して OC に取り込まれ, その機能を阻害し, アポトーシスを誘導することで骨吸収を抑制すると考えられている。今回の結果は, 単球における IRF8 の発現誘導を介した OC 分化阻害も, ZOL の骨吸収抑制作用の一部を担っている可能性を示唆している。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM1-10 Zoledronate suppresses the differentiation of osteoclasts from human monocytes

○Takimoto R¹, Tanaka M^{1,2}, Yamada A², Miyamoto Y², Sasa K², Suzawa T², Yoshimura K²,
Takami M³, Kamijo R²

¹Dept Oral Maxillofac Surg, Sch Dent, Showa Univ; ²Dept Biochem, Sch Dent, Showa Univ; ³Pharmacol Res Center, Showa Univ

Bisphosphonates accumulate in the bone and induce apoptosis of osteoclasts. On the other hand, nitrogen-containing bisphosphonates such as zoledronate frequently cause acute-phase reactions (APR) including fever within 1 or 2 days after administration. The APR is associated with increased production of inflammatory cytokines through activation of γ Δ T cells, suggesting that they not only act on mature osteoclasts present in the bone but also have effects on various peripheral blood cells. In this study, we found that zoledronate induced the expression of IRF8, a transcription factor that inhibits osteoclast differentiation, in CD14⁺ monocytes in the presence of peripheral blood mononuclear cells (PBMC), whereas removal of γ Δ T cells from PBMC abrogated it. Also, zoledronate suppressed the differentiation of CD14⁺ cells into osteoclasts induced by RANKL in the presence of PBMC in a concentration-dependent manner. Removal of γ Δ T cells from PBMC weakened the suppressive effect of zoledronate on osteoclast differentiation. A small interfering RNA for IRF8 also attenuated the suppression of osteoclast differentiation from CD14⁺ cells by zoledronate. Our present results indicate that zoledronate not only inhibits bone resorption by mature osteoclasts but also suppresses osteoclast differentiation from monocytes in the peripheral blood through induction of IRF8.

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

PM1-11 Rho ファミリー低分子量 G タンパク質 Cdc42 の血管形成および骨形成に対する機能解析

○吉田 優子¹, 山田 篤², 鈴木 航³, 上條 竜太郎², 飯島 毅彦¹

¹昭大 歯 麻酔, ²昭大 歯 口腔生化, ³昭大 歯 補綴

【目的】 Rho ファミリー低分子量 G タンパク質 Cdc42 は、細胞骨格の再編成や細胞接着、細胞増殖など細胞の様々な機能にとって重要な役割を果たしている。Cdc42 が血管形成および骨形成に対してどのような作用を有するか検討するために、血管内皮細胞で時期特異的に Cdc42 遺伝子を欠損させたコンディショナルノックアウトマウスを作製し、生体における Cdc42 遺伝子の機能解析を行うことを目的とした。

【方法】 Cdc42 flox マウスと、タモキシフェン投与により血管内皮細胞特異的に Cre を発現する Cad-CreER マウスを交配し、出生後血管内皮細胞で Cdc42 遺伝子を欠損させるマウス (Cdc42cKO マウス) を作製した。毛細血管における血管内皮細胞の形成は電子顕微鏡を用い解析した。また、大腿骨における組織解析は Villanueva Bone 染色を用いた。

【結果】 胎生期に血管内皮細胞で Cdc42 遺伝子を欠損させたマウスは致死となる (Berry D. Development, 142, 3058-3070, 2015)。そこで、生後すぐに Cdc42 遺伝子を欠損させたところ、生後 8 日齢から 10 日齢で致死となった。Cdc42cKO マウスの組織解析から、各種臓器において出血が認められ、血球やマクロファージの浸潤が認められた。電子顕微鏡による組織解析から、毛細血管の血管内皮細胞が基底膜より剥がれ死滅した細胞が多く認められ、この死滅した細胞を貪食するマクロファージも観察された。大腿骨の組織解析より、Cdc42cKO マウスはコントロールマウスと比較し、大腿骨長が短く、成長板における軟骨細胞の柱状配列の乱れ、肥大軟骨細胞の形態異常および類骨幅の増加などが認められた。

【考察】 血管内皮細胞における Cdc42 は、出生後、血管の形成や血管を介した骨形成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】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM1-11 Mechanisms of Cdc42, Rho family low molecular G protein, during postnatal angiogenesis and bone formation

○Yoshida Y¹, Yamada A², Suzuki W³, Kamijo R², Iijima T¹

¹Div Dent Anesthesiol, Sch Dent, Showa Univ; ²Dept Biochem, Sch Dent, Showa Univ; ³Div Prosthodont, Sch Dent, Showa Univ

Cdc42 plays important roles in various functions of cells such as cytoskeletal rearrangement, cell adhesion and proliferation. To investigate how Cdc42 is involved in the action of vascular endothelial cells on bone formation, we generated Cdc42 conditional knockout mice in which Cdc42 was time-specifically deficient in vascular endothelial cells. We used CadCreER mice expressing the recombinant enzyme Cre specifically in the vascular endothelial cells by tamoxifen administration (Cdc42^{fl/fl}; Cad-CreER: Cdc42 cKO). Cdc42 deleted mice in vascular endothelial cells at embryonic stage are lethal. Therefore, when the Cdc42 gene was deleted after birth, Cdc42 cKO mice were smaller than the control mice, and died between P8 and P10. These mice had various pathological aberrances in the vessels of most organs. Electron microscopic observation revealed that capillary endothelial cells became detached from the basement membrane as well as phagocytosis of dead endothelial cells by macrophages. Regarding to bone formation, tissue analysis of the femur showed that the Cdc42 cKO mice had shorter femur bones, columnar disorganization of chondrocytes in the growth plate as compared to the control mice. These results suggest that Cdc42 in vascular endothelial cells plays important roles in the formation of blood vessels and bone formation after birth.

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

PM1-12 BMP 誘導性の異所性骨における骨形成抑制因子スクレロスチン陽性細胞の経時的観察

○松下 雅衣¹, 小出 雅則², 芳澤 享子¹, 堀部 寛治³, 小林 泰浩², 山下 照仁², 中道 裕子², 上原 俊介⁴, 宇田川 信之⁴

¹松歯大 院 組織再建口外, ²松歯大 総歯医研, ³松歯大 口腔解剖, ⁴松歯大 口腔生化

【目的】骨形成を抑制するスクレロスチンは主に骨細胞から分泌され、骨細胞マーカーとしても知られている。しかし、BMP 誘導性異所性骨におけるスクレロスチン陽性細胞については未だ明らかにされていない。我々は、BMP 誘導性異所性骨の形成および成熟過程におけるスクレロスチン陽性細胞を経時的に評価した。【方法】BMP-2 をコラーゲンペレットに浸漬した BMP ペレットを、7 週齢雄のマウスの右側大腿部筋膜下に埋入した。7 日目、10 日目、2 週目、4 週目、6 週目に BMP により誘導された異所性骨を採取した。採取した異所性骨の組織形態とスクレロスチン陽性細胞を組織学的に評価し、石灰化は μ CT 撮影で解析した。【結果】埋入後 7 日目に回収した異所性骨：メタクロマジー陽性の軟骨組織が形成され、スクレロスチン陽性の軟骨細胞が認められた。マイクロ CT 撮影で石灰化は認められなかった。埋入後 10 日目に回収した異所性骨：メタクロマジー陽性の軟骨組織と、陰性の骨組織が形成されていた。軟骨細胞、骨細胞および軟骨基質から骨基質への移行部にスクレロスチン陽性像が認められた。また、BMP ペレットを取り囲むような石灰化像を認めた。埋入後 2 週目に回収した異所性骨：メタクロマジー陽性の軟骨組織は減少していた。多数の骨細胞がスクレロスチン陽性を示した。これらの骨細胞は DMP-1 と FGF-23 も陽性であった。BMP ペレットを完全に囲む外殻層には、多孔質な石灰化像を認めた。埋入後 4 週目に回収した異所性骨：外殻層に層板骨が形成されており、層板骨内の扁平な骨細胞はスクレロスチン陽性であった。石灰化物の不透過性が充進するとともに、外殻の厚さは薄くなっていた。埋入後 6 週目に回収した異所性骨：組織像や石灰化像は 4 週目のものと類似しており、骨細胞におけるスクレロスチン陽性細胞は 6 週目でも認められた。【結論】BMP 誘導性異所性骨において骨細胞のみならず、軟骨細胞においてもスクレロスチン陽性が認められた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM1-12 Long-term observation of sclerostin expression in BMP-induced ectopic bone

○Matsushita M¹, Koide M², Yoshizawa M¹, Horibe K³, Kobayashi Y², Yamashita T², Nakamichi Y², Uehara S⁴, Udagawa N⁴

¹Dept Reconstr Surg Oral Maxillofac Reg, Grad Sch Oral Med, Matsumoto Dent Univ; ²Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ; ³Dept Oral Anat, Matsumoto Dent Univ; ⁴Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ

Sclerostin, a negative regulator bone formation, is secreted mainly from osteocytes and is also known as an osteocyte marker. However, the observation of sclerostin expression in BMP-induced ectopic bone has not yet been clarified. We evaluated the sclerostin-positive cells during BMP-induced ectopic bone formation and maturation. 5 μ g BMP-2 was soaked in a collagen pellet, and the BMP pellet was implanted into the fascia of right femoral of C57BL/6 male mice at 7 weeks of age. BMP-induced ectopic bone was collected after 7 days, 10 days, 2 weeks, 4 weeks, and 6 weeks. The collected ectopic bones were evaluated for sclerostin expression by immunohistochemical staining. Ectopic bone collected 7 days after implantation: Some sclerostin-positive chondrocytes were observed. Ectopic bone collected 10 days after implantation: Sclerostin-positive cells were observed at chondrocytes, osteocytes, and at the cartilage to bone matrix transitions. Ectopic bone collected 2 weeks after implantation: A large number of osteocytes were positive for sclerostin. Ectopic bone collected 4 and 6 weeks after implantation: Mature flat osteocytes were observed. A large number of osteocytes were positive for sclerostin. Taken together, these results suggest that not only osteocytes but also chondrocytes express sclerostin in BMP-induced ectopic bone.

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

PM1-13 抗 MHC 抗体投与後の肺水腫における血管内皮グリコカリックスの分解

○西田 梨恵^{1,2}, 笹 清人¹, 山田 篤¹, 田中 準一³, 美島 健二³, 飯島 毅彦², 上條 竜太郎¹

¹昭大 歯 口腔生化, ²昭大 歯 麻酔, ³昭大 歯 口腔病理

【目的】 輸血関連急性肺障害は、稀に輸血後数時間以内に起こる急激な肺水腫である。輸血製剤中の抗 MHC class I 抗体に起因する免疫反応が原因であると考えられている。しかし、抗 MHC class I 抗体がどのような機序で肺水腫を起こすかは十分解明されていない。そこで今回、抗 MHC class I 抗体を投与により肺水腫を誘導したマウスを用いて、肺血管内皮細胞上の防護壁と考えられるグリコカリックス (GCX) の変化および肺水腫発症におけるマクロファージ (MΦ) の役割を解析した。

【方法】 BALB/c 雄マウスの静脈内に抗 MHC class I 抗体を投与した。抗体投与 30 分後に肺を摘出し、肺水分量から肺水腫を評価した。また、マウスをランタン含有固定液で灌流後、肺血管内皮細胞の GCX を、電子顕微鏡を用いて観察した。GCX の主要構成成分であるシンデカン-1 (Sdc-1) の血清中の濃度を測定した。さらに、クロドロン酸リポソームで MΦ を枯渇させたマウスに抗 MHC class I 抗体を投与し、肺水分量と血清 Sdc-1 を測定した。また、GCX の構成成分であるヘパラン硫酸を分解するヘパラーゼの阻害剤として知られるヘパリンの投与が GCX に与える影響を解析した。

【結果】 抗 MHC class I 抗体をマウスの静脈内に投与したところ、投与後 30 分で肺水腫、肺血管内皮細胞 GCX の減少、血清中の Sdc-1 とヘパラン硫酸分解活性の上昇が起こった。抗 MHC class I 抗体によるこれらの変化は MΦ 枯渇により抑制された。また、ヘパリン投与は肺水分量の増加と GCX の減少を抑制した。

【結論】 抗 MHC class I 抗体投与による肺水腫と肺血管内皮細胞 GCX の分解が MΦ の枯渇とヘパリン投与により抑制されたことから、MΦ が関与した GCX の分解が輸血関連急性肺障害における肺水腫の発症原因のひとつと考えられた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM1-13 Degradation of the endothelial glycocalyx in pulmonary edema caused by anti-MHC antibody administration

○Nishida R^{1,2}, Sasa K¹, Yamada A¹, Tanaka J³, Mishima K³, Iijima T², Kamijo R¹

¹Dept Biochem, Sch Dent, Showa Univ; ²Div Dent Anesthesiol, Sch Dent, Showa Univ; ³Div Pathol, Dept Oral Diagn Sci, Sch Dent, Showa Univ

Transfusion-related acute lung injury is pulmonary edema rarely happens in a few hours after a blood transfusion. While it is accepted that immunological reactions initiated by the anti-MHC class I antibody in the transfused blood cause the edema, the precise mechanism of the pathogenesis has not been fully elucidated. Here, we analyzed the change in pulmonary endothelial glycocalyx, a structural barrier of endothelial cells, in mice after injection of an anti-MHC class I antibody. The role of macrophages in the pathogenesis was also studied. The glycocalyx was degraded extensively in 30 minutes after the administration of an anti-MHC antibody, accompanying the increase in syndecan-1, the major component of the glycocalyx, and heparanase activity in the blood. Depletion of macrophages by clodronate-containing liposomes ameliorated the pulmonary edema and degradation of the glycocalyx. Administration of heparin, an inhibitor of heparanase, also suppressed the pulmonary edema and glycocalyx degradation. Our study indicates that macrophages are involved in the pathogenesis of transfusion-related acute lung injury through the degradation of pulmonary endothelial glycocalyx by heparanase.

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

PM1-14 C2C12 細胞から骨芽細胞への分化誘導におけるミダゾラムの Drug repositioning の可能性

○日高 亨彦¹, 大熊 理紗子², 唐木田 丈夫², 山本 竜司², 阿部 佳子¹, 齊藤 まり², 山越 康雄², 河原 博¹

¹鶴大 歯 麻酔, ²鶴大 歯 生化学

【目的】 Drug repositioning は既存薬の薬理効果を別の治療薬として開発する戦略をいう。ミダゾラム (MDZ) は、静脈内鎮静法に使用される麻酔導入薬である。本研究では、骨形成タンパク質-2 (BMP-2) と MDZ の骨形成分化への併用効果について実験を行った。

【方法】 不死化マウス筋芽細胞株 (C2C12 細胞) を BMP-2 と MDZ (BMP-2 + MDZ) の組み合わせで培養し、C2C12 細胞の骨芽細胞への分化とシグナル伝達を、細胞生物学的、免疫組織化学的および結晶工学的に調べた。アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性の測定、MTS assay による細胞増殖の測定、筋管細胞の免疫染色、real time PCR による遺伝子発現測定、生成された石灰化物の同定、各受容体の免疫染色を行った。

【結果】 BMP-2 + MDZ 処理は、C2C12 細胞の筋管細胞形成を減少させ、ALP 活性と骨芽細胞分化マーカー遺伝子の発現レベルを上昇させた。石灰化培地を用いて形成した C2C12 細胞の石灰化沈着物は、ランダムに配向したヒドロキシアパタイトのナノロッドとナノ粒子で構成されていた。BMP-2 + MDZ 処理により、C2C12 細胞の γ -アミノ酪酸 (GABA) 受容体の $\alpha 1$ および $\gamma 2$ サブユニット抗原の免疫染色性は減少したが、I 型 BMP 受容体やリン酸化 Smad1/5/8 のなどの BMP シグナル伝達に関する物質の免疫染色性が増強した。

【結論】 本研究では、BMP-2 + MDZ が C2C12 細胞の骨芽細胞への分化を誘導し、骨再生における Drug repositioning に対して有用性があ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。

PM1-14 Drug repositioning of midazolam in the induction of differentiation from C2C12 cells to osteoblasts

○Hidaka Y¹, Chiba-Ohkuma R², Karakida T², Yamamoto R², Fujii-Abe K¹, Saito MM², Yamakoshi Y², Kawahara H¹

¹Dept Dent Anesthesiol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

The objective: Drug repositioning is a strategy to develop the pharmacological effect of an existing drug as an alternative treatment. Midazolam (MDZ) is an induction drug used for intravenous sedation. In the present study, the combined effect of Bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) and MDZ on osteogenic differentiation was investigated.

Methods: The differentiation and signaling of C2C12 cells into osteoblasts were investigated by cell biology, immunohistochemistry, and crystal engineering by culturing immortalized mouse myoblasts (C2C12 cells) in combination with BMP-2 and MDZ (BMP-2 + MDZ).

Results: BMP-2 + MDZ treatment reduced myotubular cell formation in C2C12 cells and increased ALP activity and expression levels of osteoblast differentiation marker genes. Calcified deposits of C2C12 cells formed using calcification medium consisted of randomly oriented hydroxyapatite nanorods and nanoparticles. BMP-2 + MDZ treatment reduced immunostaining of $\alpha 1$ and $\gamma 2$ subunit antigens of γ -aminobutyric acid (GABA) receptors in C2C12 cells, but enhanced immunostaining of substances related to BMP signaling, such as type I BMP receptors and phosphorylated Smad1/5/8.

Discussion: In this study, BMP-2 + MDZ induced the differentiation of C2C12 cells into osteoblasts, suggesting that BMP-2 may be useful for drug repositioning in bone regeneration.

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

PM1-15 リアルタイムメチル化特異的 PCR 法を用いた新しい年齢推定法の検討

○小方 彩乃, 近藤 真啓, 網干 博文

日大 歯 法医

遺伝子の発現制御に関わるエピジェネティックな変化として, DNA のメチル化が注目されている。最近, 血液や唾液を試料としたパイロシークエンス解析から, 特定遺伝子上流の CpG アイランドにおけるメチル化率と年齢との相関が見出され, 法医学分野で年齢推定への実用化に期待が寄せられている。そこで本研究では, 高い再現性があり, 簡便かつ安価なリアルタイムメチル化特異的 PCR (以下, MSP) による歯由来 DNA を試料とした年齢推定法の開発を目的とした。20-79 歳の抜去歯 (29 例) を用い, 通法に従って genomic DNA を抽出後, バイサルファイト処理を行った。次に *ELOVL2* の上流に存在する CpG 配列を標的としたメチル化認識プライマー, 対照プライマーとしてヒト ALU 配列に対するプライマーを作成し, リアルタイム MSP を行い, percent methylated reference (以下, PMR) を算出した。さらに PMR を説明変数とする年齢推定のための回帰式を算出し, その精度について検討した。各試料における PMR は実年齢と強い相関を示した ($r = 0.843$)。また, 男女別の分析による決定係数は男性で 0.61, 女性で 0.82 であり, 有意差は認められなかった。回帰式より求めた推定値と実年齢との差の平均値は 8.94 歳であった。本解析で得られた歯を試料とした *ELOVL2* のメチル化率と年齢との相関は, 体液を試料とした先行研究による相関の精度と同程度であった。本解析は *ELOVL2* のみを年齢推定のための指標 (標的遺伝子) としたにもかかわらず, 一定の推定精度を示した。以上の結果から, 本解析法は法医学分野における年齢推定に十分応用可能であ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。

PM1-15 New age estimation method according to DNA methylation using real-time methylation-specific PCR

○Ogata A, Kondo M, Aboshi H

Dept Leg Med, Nihon Univ Sch Dent

Age determination of body remains can be crucial to forensic scientists to narrow down identified or unidentified individuals. There is accumulating evidence that the DNA methylation levels of cytosine residues can be used to verify age estimation. Here we report a new age estimation method based on methylation levels of DNA extracted from teeth using real-time methylation-specific PCR (MSP). We isolated genomic DNA from 29 teeth (from 20 to 79 years old) and bisulfite treatment was performed. As a target site, we selected the CpG island in the upstream region of *ELOVL2*, which is known as a validated biomarker in blood samples. The cytosine methylation levels in the CpG sites of *ELOVL2* highly correlated with age ($r = 0.843$, $n = 29$). Age-related change in DNA methylation levels was not affected by gender. Furthermore, our simple regression model based on DNA methylation status exhibited some accuracy with a mean absolute deviation between chronological age and predicted age of 8.94 years. The results suggest that real-time MSP can be a new tool to perform age prediction of unidentified bodies in forensic scenes.

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

PM1-16 脱灰骨シートに含まれる骨形成因子の同定

○齊藤 悠^{1,2}, 山本 竜司², 白井 麻衣¹, 大熊 理紗子², 山越 康雄²

¹鶴大 歯 補綴 I, ²鶴大 歯 生化学

【目的】 インプラント治療における骨増生において、メンブレンによるスペースメイキングの有効性は既に知られているが、生理活性物質を含むメンブレンは少ない。これまでに生理活性物質を有するメンブレンとして脱灰骨シートを用いたところ、骨形成の促進効果が得られ、その効果は脱灰骨シートに含まれる骨タンパク質に起因することが示唆された。本研究では脱灰骨シートに含まれる骨形成因子の探索を目的とした。

【材料および方法】 6週齢雄性SDラット脛骨を粉末にし、塩酸グアニジン (G1画分) - 塩酸 (H画分) - 塩酸グアニジン (G2画分) と段階的に骨タンパク質を抽出した。次に生体移植実験として同種ラット大腿骨を塩酸で脱灰し、1辺3mmの四角形に成形した脱灰骨シート (DBS⁺) を作製した。DBS⁺より塩酸グアニジンで骨タンパク質を溶出させたシート (DBS⁻)、DBS⁻に脛骨由来G2画分の骨タンパク質を再吸着させたシート (DBS'⁻)、その比較にDBS'⁻と同様の操作をG2画分なしで行ったシート (DBS''⁻) の4種をラット背部皮下に移植した (n=3)。埋入から28日後に屠殺、micro-CTによる撮影を行い、三次元再構築ソフトを用いて観察を行った。

【結果】 G2画分中には分子量50-64kDaの領域に特異的なタンパク質の存在が認められた。また、micro-CT画像より、DBS⁺には他の骨シートの画像と比較して高度に石灰化している部位を認めた。DBS⁻ではほとんど石灰化は認められなかった。DBS'⁻は石灰化の核と思われる小規模な石灰化が観察されたが、DBS''⁻では石灰化は認められなかった。

【考察】 以上の結果より、画分中に含まれる特異的なタンパク質が骨増生に対して何らかの影響を与えていることが示唆された。生体移植実験ではDBS⁺は高度な石灰化を示したが、同様の効果を想定したDBS'⁻では石灰化の程度が低い傾向を示した。現在G2画分中の骨タンパク質の脱灰骨シートへの再吸着に関する至適条件を見出すことを検討している。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM1-16 Identification of osteogenic factors in demineralized bone sheet

○Saito H^{1,2}, Yamamoto R², Shirai M¹, Chiba-Ohkuma R², Yamakoshi Y²

¹Dept Removable Prosthodont, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

Objectives: The purpose of this study is to identify osteogenic factors in demineralized bone sheet.

Methods: Bone proteins were sequentially extracted from the tibia of SD rats and biochemically analyzed. Femora of SD rats were decalcified and a bone sheet (DBS⁺) was prepared (3.0 × 3.0 mm). Sheets of other conditions were made which extracted bone proteins from DBS⁺ (DBS⁻), re-adsorbed bone proteins on DBS⁻ (DBS'⁻), and for comparison (DBS''⁻). These sheets were transplanted in subcutaneously to the back of the rat (n=3). At 28 days post-transplantation, all rats were sacrificed and scanned by a micro-computed tomography (micro-CT) system.

Results: The presence of specific protein was confirmed by SDS-PAGE. Micro-CT images showed highly calcified sites in DBS⁺. Few calcifications were observed in DBS⁻ or DBS''⁻, while minor calcifications were observed in DBS'⁻.

Discussion: It was suggested that the specific protein contained in G2 fraction had some effect on bone augmentation. In living transplantation experiments, DBS⁺ showed a high degree of calcification, but DBS⁻ revealed a low degree of calcification although we assumed a similar effect. We are currently studying to find the optimal conditions for re-adsorption of bone proteins in G2 fraction to demineralized bone sheet.

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

PM1-17 HUCPVC は骨芽細胞への分化能を有している

○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 生化学

【目的】 未分化間葉系細胞 (MSC) の代替として臍帯のワルトンゼ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 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】 先行研究により HUCPVC が骨芽細胞へ分化するにはトランスフォーミング成長因子 (TGF- β), BMP 阻害剤 (LDN), 活性型ビタミン D が必須であることが示唆されたため, 本研究では経時の変化を追いながら HUCPVC の細胞増殖能測定と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。さらには細胞増殖能測定により, コントロール群と比較して活性型ビタミン D と TGF- β と LDN を添加した群では増殖が抑制される結果となった。これは骨芽細胞に分化することで増殖が抑制されていることが推察される。これらの実験から 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さらには TGF- β を添加することで作用が増強され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】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM1-17 HUCPVC has the ability to differentiate into osteoblasts

○Nonoyama S¹, Karakida T², Yamamoto R², Nagano T¹, Yamakoshi Y², Gomi K¹

¹Dept Periodont, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

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. To achieve this purpose, we examined whether HUCPVC has the ability to differentiate into osteoblasts.

Material and Methods: Our previous studies have demonstrated, that active vitamin D and BMP inhibitor (LDN) are required to differentiate HUCPVC into osteoblasts. It was also suggested that transforming growth factor-beta (TGF- β) might be involved in the potentiation of action. Based on those results, we examined whether HUCPVC has an ability to differentiate into osteoblasts by measuring cell proliferation ability and gene analysis.

Results & Conclusion: The mRNA level of RUNX2, OPN and Type I collagen was enhanced by adding active vitamin D and LDN, or active vitamin D, TGF- β and LDN to HUCPVC. Cell growth was suppressed by adding active vitamin D, TGF- β and LDN to HUCPVC. This indicates that HUCPVC can be differentiated into osteoblasts by endogenous BMP inhibition. We conclude that HUCPVC has the potential to replace MSC.

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

PM1-18 金属アレルギー発症過程におけるセマフォリン 3A の役割

○劉 黎佩, 渡邊 恵

徳大 院医歯薬 補綴

PM1-18 The role of Semaphorin 3A in the development of metal allergy

○Liu L, Watanabe M

Dept Oral Maxillofac Prosthodont, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

Purpose: Metal allergy is one of the typical immune disorders that happens during dental treatment, but many unclear points remain in its pathogenic mechanism. Semaphorin family members have been shown to play crucial roles for various immune response phases. Semaphorin 3A (Sema3A), a secreted member of this family, is well reported as a potent immune modulator in many immune reactions including immune cell migration and regulation. In this study, we investigated the role of Semaphorin 3A in metal allergy using a nickel (Ni) allergy mouse model.

Materials & Methods: As an in vitro experiment, the mouse keratinocyte cell line Pam2.12 was treated with 250 $\mu\text{mol/ml}$ NiCl_2 . The expression of Sema3A was analyzed by PCR and Western blotting. To examine the effect of inhibition of Sema3A, the activation of MAP kinase and the production of inflammatory cytokines in Pam2.12 were analyzed 24 hours and 48 hours after transfection of Sema3A siRNA. In vivo, the analysis was performed using 6-8 week old female C57BL/6J mice in which the allergic reaction to NiCl_2 was induced in ears. The thickness of mouse ear was measured 48 hours after NiCl_2 injection.

Results & Conclusion: Increased expressions of Sema3A protein and mRNA were observed on NiCl_2 stimulated Pam2.12 and it showed the strongest expression 12 hours after NiCl_2 stimulation. The activation of MAP kinase was observed. The phosphorylated ERK1/2 showed a peak 24 hours after stimulation. The phosphorylated p38 reached a peak 48 hours after stimulation. The upregulation of TSLP was also observed at 12 hours. After suppressing Sema3A in Pam2.12, the activation of p38 was inhibited. Interestingly, the activation of ERK1/2 was increased. After Sema3A's inhibition, the mRNA expression of IL-1 β was enhanced and the mRNA expression of TNF α was inhibited. In a study of a Ni allergy model mouse, Sema3A expression was elevated in the dermis compared to the control mice. The protein level of Sema3A was upregulated in the Ni allergy mouse ears. The activation of ERK was inhibited in the Ni allergy mouse ears. The results of this study indicated that Semaphorin 3A might play an important role in Ni allergy through mediating the activation of MAP kinase and the production of inflammatory cytokines.

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

PM1-19 老化関連 T 細胞および唾液腺上皮の細胞老化が口腔乾燥症の病態形成に 関与する可能性

○黒澤 実愛, 古川 匡恵, 松下 健二, 四釜 洋介

国立長寿医療研 口腔疾患研

【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が唾液腺機能におよぼす影響の解析を目的とした.

【方法】 C57BL/6N の老齢マウス (約 22 ヶ月齢) と若齢マウス (約 7 週齢) を用いた. 免疫細胞および唾液腺上皮細胞は Flow cytometry, DNA microarray, または Real-time PCR 法を用いて解析した. 上皮細胞のマーカーである CD326 抗体を結合した磁気ビーズを用い唾液腺上皮細胞を単離した. 唾液腺上皮初代培養細胞は生後 5 週前後のメスマウスから単離した細胞を用いた.

【結果】 老齢マウス唾液腺において, リンパ球浸潤, 特に老化関連 T (SA-T) 細胞集積を確認した. また, 若齢および老齢マウス唾液腺上皮細胞における遺伝子発現を比較した結果, ケモカインの 1 つである CXCL13 発現レベルが老齢マウス上皮細胞で上昇していた. SA-T 細胞は CXCL13 の受容体である CXCR5 を発現しており, CXCL13 に対する遊走能は若齢マウスよりも老齢マウスの SA-T 細胞を含むメモリー T 細胞で亢進していた. SA-T 細胞は炎症性タンパクとしても機能するオステオポンチンを産生する事が知られており, *in vitro* において唾液腺上皮初代培養細胞をオステオポンチン刺激すると, interleukin (IL) -6 発現が上昇した.

【結論】 唾液腺上皮の細胞老化による CXCL13 発現上昇が唾液腺に SA-T 細胞を集積させ, さらにオステオポンチンが唾液腺上皮細胞に IL-6 発現を誘導する事で, 唾液腺組織破壊を伴う分泌障害を引き起こす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.

PM1-19 Cellular senescence in salivary gland epithelial cells may induce the accumulation of senescence-associated T cells (SA-Ts) in murine submandibular glands

○Kurosawa M, Furukawa M, Matsushita K, Shikama Y

Dept Oral Dis, Natl Center Geriatr Gerontol (NCGG)

Objectives: The mechanisms underlying the involvement of aging and/or gender in the function of the salivary glands (SG) are not well known. In this study, we investigated whether SA-Ts accumulate in the SG with age 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: SA-Ts accumulated in the SG of aged mice, and the mRNA expression level of the chemokine CXCL13 was higher in the SG epithelial cells of aged mice than in those of young mice. Effector memory T cells, which include SA-Ts, from aged mice demonstrated higher *in vitro* migratory activity toward CXCL13 than these cells from young mice. Osteopontin is produced by SA-Ts and its stimulation induced interleukin (IL)-6 mRNA expression in SG epithelial cells. This study suggested that CXCL13 expression in SG epithelial cells of aged mice induces SA-Ts accumulation and that osteopontin produced by SA-Ts induces IL-6 expression in SG epithelial cells, resulting in tissue destruction.

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

PM1-20 癌関連線維芽細胞と口腔扁平上皮癌細胞の相互作用における TGF- β /SOX9 経路の役割

○羽賀 健太^{1,2,3}, 山崎 学³, 丸山 智³, 船山 昭典¹, 小林 正治¹, 田沼 順一³

¹新潟大 院医歯 組織再建口外, ²新潟大 院医歯 生体組織再生, ³新潟大 院医歯 口腔病理

【目的】 癌関連線維芽細胞 (CAFs) は, 癌の進展に重要な役割を果たしている. われわれは以前に, 口腔扁平上皮癌 (OSCC) において, 転写因子である SOX9 の高発現が OSCC の進展と正に相関し, 予後不良因子であると報告してきたが, OSCC において SOX9 の発現調節機構に関してはまだ十分に明らかになっていない. そこで本研究では, TGF- β を含む CAFs 由来の液性因子が, SOX9 の発現を調節し OSCC 細胞の浸潤を促進するという仮説を立て, 癌の進展における CAFs と OSCC 細胞間の TGF- β /SOX9 経路の役割を明らかにすることを目的とした.

【材料と方法】 OSCC 細胞および CAFs と共培養された 3 次元培養モデルを確立し, CAFs による癌の遊走能および浸潤能への影響を調査した. さらに, CAFs の発現パターンと臨床病理学的予後因子との関連を比較検討した.

【結果】 CAFs 培養上清下では OSCC 細胞の遊走は促進され, CAFs は 3D モデルにおいて OSCC 細胞の浸潤を促進した. 浸潤した OSCC 細胞は, SOX9 と vimentin の発現が亢進した一方で, E-cadherin の発現が減弱しており, SOX9 が上皮間葉転換 (EMT) の促進に関与することが示唆された. さらに, TGF- β シグナルの阻害および SOX9 ノックダウンにより, 癌の浸潤は有意に減少し, TGF- β を介した浸潤が SOX9 の発現に依存することが示された. また外科標本において, CAFs の存在は癌の浸潤様式および頸部リンパ節後発転移と相関がみられた.

【結論】 TGF- β /SOX9 経路は, OSCC の癌進行において CAFs と OSCC 細胞の相互作用に関わる重要な調節因子と考えられ, 本研究により, CAFs・OSCC 細胞相互作用に注目した新規治療法開発への展望が示された.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

PM1-20 The roles of TGF- β /SOX9 axis in the interactions between cancer-associated fibroblasts and oral squamous cell carcinoma cells

○Haga K^{1,2,3}, Yamazaki M³, Maruyama S³, Funayama A¹, Kobayashi T¹, Tanuma JI³

¹Div Reconstructive Surg Oral Maxillofac Reg, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ²Div Biomater Sci, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ³Div Oral Pathol, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ

Cancer-associated fibroblasts (CAFs) play important roles in promoting cancer development and progression. We previously reported that high expression levels of sex-determining region Y (SRY)-box 9 (SOX9) in oral squamous cell carcinoma (OSCC) cells were positively correlated with poor prognosis. However, how SOX9 expression is regulated and how it modulates cell behavior in OSCC remains unclear. We hypothesized that CAF-derived factors, including transforming growth factor- β (TGF- β), facilitate OSCC cell invasiveness via SOX9 upregulation. To verify this hypothesis, we developed a three-dimensional (3D) model co-cultured with OSCC cells and CAFs and investigated CAF-mediated cancer migration and invasion. Moreover, we analyzed the association between CAFs and clinicopathological factors. We found that CAFs promoted cancer migration and invasion in the 3D model. The invading OSCC cells showed strong signals for SOX9 and vimentin and weak signals for E-cadherin, suggesting that SOX9 promotes epithelial mesenchymal transition. Moreover, TGF- β signaling inhibition and SOX9 knockdown drastically reduced cancer invasion, indicating that TGF- β -mediated invasion is dependent on SOX9 expression. In the surgical specimens, the presence of CAFs was correlated with mode of invasion and regional recurrence. Taken together, these findings identifies TGF- β /SOX9 axis as a key regulator of CAF-cancer cell interactions in cancer progression of OSCC.

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

PM1-21 ヒト口腔扁平上皮癌に高発現した機械受容器 TRPV4 は CaMKII/AKT シグナル伝達を介して癌細胞の増殖を制御する

○田尻 祐大^{1,2}, 藤井 慎介¹, 清島 保¹

¹九大 院歯 口腔病理, ²九州医療セ 歯科口腔外科

口腔がんの約90%が扁平上皮癌(OSCC)である。固形癌では一般的に癌周囲に硬結を認めるが、口腔癌では触診できる硬結が重要な臨床所見の一つに挙げられる。乳癌では、細胞外基質の硬度の増加、つまり硬結の増加が腫瘍形成を促進するという研究結果が報告されているが、OSCCにおける生物学的意義は不明である。最近、Ca²⁺透過性の高い非選択的陽イオンチャネルであり、物理刺激や化学刺激を感知する受容器として知られる Transient Receptor Potential Vanilloid 4 (TRPV4) と腫瘍形成(乳癌等の複数の癌腫)との関連性を示唆する報告がなされている。一方、口腔癌におけるTRPV4の発現や機能は不明である。本研究ではOSCCにおけるTRPV4の発現と機能について検討することを目的とした。OSCC細胞株HSC-4はTRPV4を高発現しており、アゴニスト依存的なCa²⁺の細胞内流入はその発現に依存していた。また、HSC-4においてshRNAを用いてTRPV4をノックダウン(KD)すると、低接着dishおよび2次元培養ではsphereサイズに影響しなかったが、3次元培養におけるsphereサイズは減少した。加えて、TRPV4のKDはCaMKIIおよびAKTのリン酸化を抑制した。さらに、ゼノグラフトモデルにおいてTRPV4のKDは腫瘍の重量・体積の増加を抑制した。また、ヒト病理組織標本では腫瘍部に高頻度でTRPV4が発現し、AKTのリン酸化と高頻度に共局在していた。これらの結果から、TRPV4はOSCC細胞株、ヒトOSCC組織に高頻度で発現しており、TRPV4が細胞外環境にตอบสนองし、Ca²⁺の流入が起こり、CaMKII/AKT経路の活性化を介してOSCCにおける細胞増殖を制御していることが明らかとなった。本研究の結果から、口腔癌における硬結がTRPV4を介して腫瘍形成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。

PM1-21 Highly expressed mechanoreceptor TRPV4 in human oral squamous cell carcinoma regulates cancer cell growth via CaMKII/AKT signaling

○Tajiri Y^{1,2}, Fujii S¹, Kiyoshima T¹

¹Sect Oral Pathol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Dent Oral Surg, Kyushu Med Center

Transient Receptor Potential Vanilloid 4 (TRPV4) is a Ca²⁺ permeable non-selective cation channel which responds to various extra-cellular stimulations, such as physical (temperature and mechanical) and chemical stimulations. Recent studies reported that TRPV4 is associated with tumorigenesis in several cancers, but its expression and function in oral cancer are not fully understood. In this study, we investigated the expression and function of TRPV4 in human oral squamous cell carcinoma (OSCC). TRPV4 mRNA was highly expressed in HSC-4 among five OSCC cell lines, and agonist-dependent intracellular Ca²⁺ entry was dependent on its expression. Knockdown (KD) of TRPV4 using shRNA in HSC-4 did not affect sphere size in low-adhesion dish and 2D culture, but reduced sphere size in 3D culture. In addition, KD of TRPV4 reduced phosphorylation of CaMKII and AKT. Furthermore, in the xenograft model, TRPV4 KD reduced the increase in tumor weight and volume. In OSCC specimens, TRPV4 was frequently expressed in the tumor lesions, and was frequently co-localized with AKT phosphorylation. Taken together, TRPV4 is highly expressed in OSCC cell lines and Ca²⁺ entry occur in response to extracellular environment. These results suggest that TRPV4/CaMKII/AKT pathway regulates cell growth in OSCC.

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

PM1-22 IFN- γ 惹起 triptophan-IDO1-kynurenine-AhR シグナル活性化はヒト口腔扁平上皮癌において免疫学的腫瘍休眠状態を誘導する

○Anzai Hiromasa^{1,2}, 吉本 尚平¹, 平木 昭光², 橋本 修一¹

¹福歯大 病態構造, ²福歯大 口腔腫瘍

免疫学的機序に関連した腫瘍休眠状態は、免疫チェックポイント療法などの免疫療法において良好な治療効果を期待する上での奏効率の低下に係る重大な要因の一つと考えられている。しかしながら、腫瘍の休眠状態へ移行する免疫学的機序については依然として不明なままである。近年、tryptophan (TRP) の代謝系が腫瘍の病態生理に重要な役割を果たすことが報告されている。TRP から kynurenine (KYN) を産生する代謝酵素である indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) は、がん細胞や樹状細胞に発現し、ダイオキシン受容体である AhR の活性化を介して調節性 T 細胞 (Tregs) を誘導する。本研究において、IDO1 はヒト扁平上皮癌 (OSCC) に発現し、その発現は腫瘍が低分化になるほど増加していた。OSCC 細胞株である HSC-4 細胞において、IFN- γ 刺激により IDO1 タンパクの発現亢進が AhR の活性化を伴って認められた。これとは逆に、p27 タンパク発現は IFN- γ 刺激後に抑制されたが、この発現低下は KYN-AhR 結合阻害薬である 3',4'-dimethoxyflavone (DMF) 処理によりその発現の回復が認められた。この結果より、p27 タンパク発現は TRP-IDO1-KYN-AhR シグナル経路に依存していると考えられた。さらには、幹細胞マーカーである LGR6 の発現が OSCC でみられ、IFN- γ 刺激 HSC4 細胞においてはその発現の増加がみられた。以上の結果から、TRP-IDO1-KYN-AhR 経路の活性化がヒト OSCCs において腫瘍の休眠状態への移行に寄与していることが考えられた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM1-22 IFN- γ -triggered triptophan-IDO1-kynurenine-AhR signal activation induces immunologic tumor dormancy in human oral squamous cell carcinomas

○Anzai H^{1,2}, Yoshimoto S¹, Hiraki A², Hashimoto S¹

¹Div Pathol, Fukuoka Dent Coll; ²Div Oral Oncol, Fukuoka Dent Coll

Immunologic tumor dormancy is considered one of the formidable barriers to achieve further success of immunotherapies in such immune checkpoint therapies. However, the immune mechanism of the entry of tumor into dormancy remains unclear. Recently, altered tryptophan (TRP) metabolisms were reported to play an important role in the pathophysiology of tumors. Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1), a metabolic enzyme that produces kynurenine (KYN) from TRP, is expressed in cancer cells and dendritic cells and induces regulatory T cells (Tregs) via activating AhR, a dioxin receptor. In this study, IDO1 was expressed in human oral squamous cell carcinomas (OSCCs) and the expression was increased in accordance with poor differentiation. IDO1 upregulation was observed in the OSCC strain HSC-4 cells with AhR upregulation by IFN- γ stimulation. Conversely, p27 protein expression was repressed but the reduction was recovered by the treatment of 3',4'-dimethoxyflavone (DMF), an inhibitor of KYN-AhR binding, suggesting that p27 protein expression was dependent on TRP-IDO1-KYN-AhR signal pathway. Furthermore, a stem cell marker LGR6 was expressed in OSCCs and increased in HSC4 cells stimulated by IFN- γ . From these findings, we considered that the activation of TRP-IDO1-KYN-AhR signal pathway contributed to the entry of tumor into dormancy in human OSCCs.

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

PM1-23 IgG4 関連疾患病態形成における非コード RNA の役割

○木村 宗惟^{1,2}, 安河内 (川久保) 友世¹, 中村 誠司², 自見 英治郎¹

¹九大 院歯 OBT 研究セ, ²九大 院歯 顎顔面腫瘍制御

IgG4 関連疾患は、全身の各種臓器に IgG4 陽性形質細胞の浸潤と高 IgG4 血症が認められる疾患であるが、その病態形成機序については未だ不明である。また、これまでの本疾患の病態解析は、そのほとんどが免疫学的アプローチによるものであり、病変部位に由来より局在する正常組織の変化を追究する解析はほとんどなされていない。

そこで、今回、我々は IgG4 関連疾患のうち、特に唾液腺病変の病態形成に関与する miRNA を同定するため、患者血清中マイクロ RNA (miRNA) に着目し、正常唾液腺細胞を用いた病態形成機構の解析を行った。

miRNA は、18 ~ 25 塩基程度の短鎖非コード RNA (ncRNA) であり、自身の塩基配列と相補性が高い配列をもつ遺伝子の発現制御を担うことで、多彩な生命現象や病態形成に関わっている。

特に、体液中を循環する分泌型 miRNA は、エクソソームのような分泌小胞に包まれた状態で輸送され、血液や唾液などの体液中でも安定であるため、各種疾患の病態形成や進行を把握する非侵襲的なバイオマーカーとしても期待されている。

患者血清中 miRNA、および、正常唾液腺細胞内 mRNA に注目した網羅的 miRNA-mRNA ペアリング解析の結果、IgG4 関連疾患患者に共通して高発現している miRNA、および唾液腺上皮細胞内に局在する標的 mRNA を同定した。さらに、病変部組織における当該標的因子の蛋白質レベルでの発現パターンには、正常唾液腺組織との顕著な差異が認められることを確認した。これらのことから、血清中に存在する非コード RNA は、IgG4 関連疾患の病態形成において重要な役割をもつことが示唆された。

【非会員共同研究者】 森山 雅文 (九州大・院歯・OBT 研究セ, 顎顔面腫瘍制御)

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM1-23 The role for non-coding RNAs on pathogenesis of IgG4-related diseases

○Kimura S^{1,2}, Kawakubo-Yasukochi T¹, Nakamura S², Jimi E¹

¹OBT Res Center, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Sect Oral Maxillofac Oncol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

IgG4-related disease is a disease in which infiltration of IgG4-positive plasma cells into various organs and hyper-IgG4emia are observed, however, its pathogenic mechanism is still unknown. Previous studies on pathological analysis of this disease have been performed based on an immunological approach, and almost no analysis has been performed to investigate changes in normal tissues that are conventionally localized at the lesion site.

We therefore focused on microRNA (miRNA) in patient serum and analyzed the pathogenesis mechanism using normal salivary gland cells, in order to identify miRNA(s) involved in the pathogenesis of IgG4-related diseases.

As a result of comprehensive miRNA-mRNA pairing analysis focusing on patient serum miRNA and intracellular mRNA in normal salivary epithelial cells, the miRNA, highly expressed in patients with IgG4-related diseases, and its target mRNA, localized in salivary gland epithelial cells, were identified. Furthermore, the expression pattern of the target factor at the protein level in the lesion tissue was significantly different from that in normal salivary gland tissue.

From these results, it was suggested that the non-coding RNA in serum has an important role in the pathogenesis of IgG4-related diseases.

Non-member collaborator: Masafumi Moriyama (Sect. Oral Maxillofac. Oncol., Kyushu Univ.)

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

PM2-01 ラット扁平上皮癌細胞の機械感受性イオンチャネルと拡散可能物質について

○石崎 元樹¹, 松永 真由美^{1,2}, 矢崎 龍彦^{1,2}, 大山 定男¹, 木村 麻記¹, 澁川 義幸¹

¹東歯大 生理, ²東歯大 麻酔

【目的】口腔癌の約90%以上が悪性であることが知られているが、一部の患者は悪性病変が顕著なサイズに拡大するまで痛みを訴えないことが報告されている。これは、初期の口腔扁平上皮がんが無症状で進行することを示唆している。近年の研究では舌癌の初期段階で舌癌関連の機械的過敏症の鎮痛作用に関与している内因性物質の存在が指摘されているが、そ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 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) 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 $8\mu m$ 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 $[Ca^{2+}]_i$ 変化を記録した。また試薬の使用により反応の変化を記録した。

【結果】細胞外 Ca^{2+} 存在下で SCC-158 に機械刺激を加えると、一過性の $[Ca^{2+}]_i$ 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 $[Ca^{2+}]_i$ 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 $[Ca^{2+}]_i$ 上昇が認められた。しかし細胞外 Ca^{2+} の非存在下では機械刺激を行っても $[Ca^{2+}]_i$ の増加は認められなかった。細胞外 $10\mu M Gd^{3+}$ または $1\mu M GsMTX4$ の存在下では、機械刺激誘発性の $[Ca^{2+}]_i$ 上昇は抑制された。またエンドセリン A 受容体阻害薬である $1mM BQ-123$ 投与下では刺激した細胞では一過性の $[Ca^{2+}]_i$ 上昇の上昇を認めたが、周囲の細胞では一過性の $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を認めなかった。

【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、エンドセリンを介して周囲細胞と細胞間連絡を行っていることが示唆された。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

PM2-01 Mechano-sensitive ion channels of rat squamous cell carcinoma and their diffusible substances

○Ishizaki M¹, Matsunaga M^{1,2}, Yazaki T^{1,2}, Ohyama S¹, Kimura M¹, Shibukawa Y¹

¹Dept Physiol, Tokyo Dental Univ; ²Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dental Univ

Some patients do not complain of oral pain until the primary malignant lesions have expanded to an outstanding size, indicating that early oral squamous cell carcinoma regularly proceeds asymptotically. Recent study suggested that some substances are involved in analgesic action in mechanical hypersensitivity at the early stage of tongue cancer. In this study, we aimed to investigate the mechano-sensitivity of rat squamous cell carcinoma cells, and whether cancer cells can release diffusible pain inhibitors into surrounding environment or not. Rat squamous cell carcinoma cells (SCC-158) were used. Intracellular free Ca^{2+} concentration ($[Ca^{2+}]_i$) was measured by fura-2/AM. Direct mechanical stimulation to single SCC-158 cells was performed. $[Ca^{2+}]_i$ changes were recorded. We investigated the intercellular signal communication among cancer cells. During direct mechanical stimulation to SCC-158, we could observe transient $[Ca^{2+}]_i$ increase. Transient $[Ca^{2+}]_i$ increases were also observed in neighboring cells to the stimulated SCC-158 cells. Application of $10\mu M Gd^{3+}$ and $1\mu M GsMTX4$ inhibited mechanical stimulation-induced Ca^{2+} increase in stimulated SCC-158 cells. Application of $1\mu M BQ-123$ (endothelin A receptor inhibitor) did not inhibited $[Ca^{2+}]_i$ increase in stimulated SCC-158 cells but inhibited this in surrounding cells. We suggest that rat squamous cell carcinoma cells express mechano-sensitive cation channels and endothelin A receptors.

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

PM2-02 オキシトシンと副交感性血管拡張の相互作用による新たな顎顔面領域の血流調節機構

○石川 里奈, 佐藤 寿哉, 三戸 浩平, ラマダニ ラトナ, 石井 久淑

北医療大 歯 生理

下垂体後葉から血中に分泌されるオキシトシンは、女性だけではなく男性においても血中に同程度の濃度で存在する。オキシトシンは出産時の子宮収縮や母乳の分泌促進などの作用を持つことから、女性を主なターゲットとして研究が進められており、男性における生理作用及び生殖系以外の役割に関してはほとんど知られていない。近年、オキシトシンが体液性或いは中枢性に自律神経活動に重要な影響を与えることが報告され、男女を問わず、精神活動状態（ストレスや不安状態等）に関連する自律神経反応とオキシトシンとの新たな結びつきが明らかになりつつある。しかしながら、自律神経性血流調節とオキシトシンとの関連性は不明である。そこで本研究では、顎顔面領域におけるオキシトシンと副交感性血管拡張の相互作用を介する新たな血流調節機構の存在を明らかにすることを目的とし、ウレタン麻醉下で人工呼吸管理された雄性 Wistar 系ラットを用いて、三叉神経（舌神経）の求心性刺激時における咬筋（コリナージック）と口唇（ノンコリナージック）の血流動態に対するオキシトシンの影響を検討した。その結果、三叉神経（舌神経）への求心性刺激は咬筋と口唇の血流量を刺激強度と刺激頻度に依存して、有意に増加させた。これらの血流増加はオキシトシンの投与により有意に濃度依存性に減少した。また、その抑制作用は咬筋の方が口唇に比較して大きかった。以上のことから、三叉神経への求心性刺激時の副交感性血管拡張反応はオキシトシンで抑制されることが明らかになった。また、これらの作用はコリナージックの方がノンコリナージックより顕著であることが示された。したがって、オキシトシンと副交感性血管拡張の相互作用を介する新たな血流調節機構の存在が示唆された。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM2-02 Novel regulation of orofacial hemodynamics mediated by an interaction between oxytocin and parasympathetic vasodilation during trigeminal afferent inputs

○Ishikawa R, Sato T, Mito K, Ramadhani R, Ishii H

Div Physiol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Oxytocin, a hypothalamic hormone, regulates reproductive behavior in women and mother-infant interactions. Although similar levels of blood plasma oxytocin has been reported in men and women, its physiological functions are unclear. However, current reports suggest that oxytocin plays a role in the modulation of autonomic cardiovascular responses. In the orofacial region, parasympathetic vasodilation evoked by trigeminal mediated reflex may be important for orofacial hemodynamics because the response induces a marked blood flow increase in orofacial tissues. However, the humoral regulatory system of parasympathetic vasodilation has not been evaluated. Therefore, we explored the effect of oxytocin on changes of blood flow in both the masseter muscle (MBF; cholinergic) and the lower lip (LBF; noncholinergic) during trigeminal afferent stimulation in urethane-anesthetized rats. Electrical stimulation of the central cut end of the lingual nerve (LN) elicited significant intensity- and frequency-dependent increases of MBF and LBF. Exogenous oxytocin inhibited these increases significantly in a dose-dependent manner. The inhibitory effect was significantly greater in MBF than in LBF. These results suggest that oxytocin inhibits parasympathetic vasodilations evoked by trigeminal afferent inputs and that this inhibitory effect may be more dependent on cholinergic rather than noncholinergic mechanisms.

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

PM2-03 三叉神経入力時の歯肉の副交感性血管拡張における部位特異性○岡田 悠之介¹, 三戸 浩平², 齊藤 正人¹, 石井 久淑²¹北医療大 歯 小児歯, ²北医療大 歯 生理

歯肉には副交感性血管拡張線維が存在し、三叉神経の求心性刺激を介して急峻な血流増加を誘発することが知られている (Izumi et al., 2004). したがって、副交感性血管拡張は歯肉の機能維持に重要であり、それらの障害は種々の疾患 (歯肉炎等) に関連することが示唆される。歯肉は遊離歯肉と付着歯肉の2種類の組織が存在し、毛細血管の分布密度に違いがあることが知られている (Nozaka et al., 1976). これらの歯肉の血管網における部位特異性は歯肉の局所機能に密接に関連していると考えられる。しかしながら、歯肉の血流動態、特に自律神経反射を介する血管反応の部位差について明確にされていない。そこで、本研究はウレタン麻酔下で人工呼吸管理されたラットを用い舌神経の求心性刺激時における遊離歯肉と付着歯肉の血流動態を生理学的及び薬理学的手法で比較・検討した。ラットの遊離歯肉と付着歯肉の血流量は二次元血流計とレーザードップラー血流計を用いて測定した。体幹血圧は大腿動脈から観血的に記録し、諸種の薬物は大腿静脈から全身性に投与した。副交感神経の活性化は、舌神経の求心性電気刺激による三叉-自律神経反射法で行った。全ての実験は刺激に先立ち両側の頸部交感神経幹と迷走神経を頸部で切断しこれらの影響を完全に除去した状態で行った。舌神経の求心性刺激 (0.1 mA, 20S, 2 ms) は刺激頻度依存性 (1-20 Hz) に歯肉に有意な血流増加を誘発したが、遊離歯肉における血流増加は付着歯肉の血流増加よりも有意に大きかった。これらの血流増加は、自律神経節遮断薬のヘキサメトニウム (10 mg/ml) により有意に抑制された。しかしながら、この抑制作用は遊離歯肉の方が付着歯肉よりも顕著であった。以上より、三叉神経の求心性入力を介する副交感性血管拡張は、付着歯肉よりも遊離歯肉の血流調節に重要であり、この部位特異性は歯肉の局所機能維持或いは歯周疾患の発症機序や病態に密接に関連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。

PM2-03 Differences in parasympathetic vasodilation between free and attached gingiva during trigeminal afferents stimulation in the rats○Okada Y¹, Mito K², Saitoh M¹, Ishii H²¹Div Pediatr Dent, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ²Div Physiol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Trigeminal afferent stimulation is known to induce parasympathetic vasodilation resulting in a broad and rapid increase in gingival blood flow. This observation suggests that parasympathetic vasodilation is important for maintaining gingival hemodynamics and function. Gingiva is classified into two types¹ free and attached. Although, these gingivae have been reported to be different in the distribution and density of blood vessels, there are no reports that describe a site specificity of hemodynamic activity. Here, we explored changes in free gingiva blood flow (FBF) and attached gingiva blood flow (ABF) during electrical stimulation of the central cut end of the lingual nerve (LN) in deeply urethane-anaesthetized, artificially-ventilated, and vago-sympathectomized rats. Electrical stimulation of the LN elicited frequency-dependent increases of FBF and ABF. The increase in FBF was greater than that in ABF. These increases evoked by LN stimulation were significantly reduced by the intravenous administration of hexamethonium. However, the inhibitory effect was greater in FBF than in ABF. Our results suggest that parasympathetic vasodilation is more involved in the regulation of the blood flow in free gingiva than in attached gingiva.

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

PM2-04 閉口筋運動ニューロンにおける抑制性シナプス伝達の生後変化

○野口 毅¹, 中村 史朗², 中山 希世美², 望月 文子², 壇辻 昌典², 井上 富雄²

¹昭大 歯 スペシャルニーズ口腔医学 口腔リハ, ²昭大 歯 口腔生理

【目的】哺乳動物の摂食行動は、吸啜を経て固形物の咀嚼へと移行する。この時期には顎運動に関与する中枢神経系も大きく変化すると考えられるが、その詳細は未だ不明である。本研究では、幼若期ラットの咬筋運動ニューロンに誘発されるグリシンおよびGABA受容体を介した抑制性微小シナプス後電流 (mIPSC) の生後発育変化を解析した。

【方法】実験には生後2～5, 9～12, 14～17日齢のWistar系ラットを用いた。深麻酔下にて脳幹を摘出し、三叉神経運動核を含む厚さ400 μmの脳幹スライス標本を作成後、tetrodotoxin (0.5 μM), CNQX (20 μM) およびAPV (20 μM) 存在下で咬筋運動ニューロンからホールセルパッチクランプ記録を行った。

【結果】咬筋運動ニューロンに誘発されたGABA型mIPSCの発生頻度は、2～5日齢の方が9～12日齢よりも有意に高い値を示した ($P < 0.05$)。減衰時間は、14～17日齢の方が2～5日齢および9～12日齢よりも有意に低い値を示した ($P < 0.01$)。一方、グリシン型mIPSCの発生頻度および振幅は生後発育に伴い増加する傾向にあり、2～5日齢の方が9～12日齢および14～17日齢よりも有意に低い値を示した ($P < 0.01$)。減衰時間は、14～17日齢の方が2～5日齢および9～12日齢よりも有意に低い値を示した ($P < 0.05$)。

【考察】以上の結果より、ラット咬筋運動ニューロンへの抑制性シナプス伝達の性質が生後発育とともに変化すること、また抑制性シナプス伝達の発達様式が両受容体で異なることが示された。これらの生後変化は吸啜から咀嚼への獲得に寄与する可能性があると考えられる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM2-04 Postnatal changes of inhibitory synaptic inputs to the rat jaw-closing motoneurons

○Noguchi T¹, Nakamura S², Nakayama K², Mochizuki A², Dantsuji M², Inoue T²

¹Div Oral Rehabil Med, Dept Spec Needs Dent, Sch Dent, Showa Univ; ²Dept Oral Physiol, Sch Dent, Showa Univ

Mammals change their feeding behaviors from suckling to chewing. The neural circuits involved in jaw movement can be altered during this period. In this study, we examined the developmental changes of miniature inhibitory postsynaptic currents (mIPSC) in the rat jaw-closing motoneurons during the early postnatal period. The mIPSCs were recorded from retrogradely identified masseter motoneurons from postnatal (P) 2-5, 9-12 and 14-17 days-old Wistar rats after bath applications of tetrodotoxin, CNQX and APV. The frequency of the GABAergic components was significantly higher at P2-5 than at P9-12 ($P < 0.05$). The decay time was significantly lower at P14-17 than at P2-5 and at P9-12 ($P < 0.01$). In contrast, the frequency and amplitude of the glycinergic components were significantly lower at P2-5 than at P9-12 and at P14-17 ($P < 0.01$). The decay time was significantly lower at P14-17 than at P2-5 and at P9-12 ($P < 0.05$). These results indicate that characteristics of the inhibitory synaptic inputs to the masseter motoneurons change with ages, and the developmental patterns are different at both receptors. It is possible that such postnatal development contributes to the transition from suckling to mastication.

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

PM2-05 メタロチオネイン欠損および低亜鉛餌による条件付け味覚嫌悪行動の変化

○保浦 七愛¹, 乾 賢², 十川 紀夫³, 船橋 誠²

¹北大 院歯 矯正, ²北大 院歯 口腔生理, ³松歯大 歯科薬理

メタロチオネイン (metallothionein, MT) は金属結合タンパク質であり, 細胞内の亜鉛濃度の調節に関与している. MT の発現量は血清亜鉛濃度に依存して変化することが分かっているが, MT の生理機能との関連については不明な点が多く残されている. そこで, MT 欠損マウスを用いて, 味覚と内臓不快感の連合学習である条件付け味覚嫌悪 (conditioned taste aversion, CTA) の獲得能を調べ, MT 欠損により起こる行動変化について考察を加えた. 野生型 (WT) と MT 欠損マウス (KO) を通常食 (WT-N 群, KO-N 群) あるいは低亜鉛食 (WT-D 群, KO-D 群) で飼養した. 飲水トレーニングの後, 0.2% サッカリン溶液と 0.3 M 塩化リチウム (体重の 1% 量を腹腔内注射) の対呈示による条件付けを行った. 回復後, 0.2% サッカリン溶液と水を 2 瓶法で 30 分間呈示するテストを行い, サッカリン嗜好率を解析して CTA 獲得の有無を判定した. WT-N 群, WT-D 群および KO-D 群ではテスト 1 日目と 2 日目におけるサッカリン嗜好率が 50% より低くなり, CTA を獲得した. 一方, KO-N 群ではいずれのテスト日においてもサッカリン嗜好率が 50% 以上を示し, CTA の獲得は無かった. 結果から, 低亜鉛餌による血漿亜鉛濃度の低下は CTA 獲得に影響しないことが明らかになった. 先行研究にて MT 欠損動物において経口摂取された亜鉛が腸内で過剰に吸収されることが報告されていることから, KO-N 群では血漿亜鉛濃度が高値になっていることで, 塩化リチウムによる悪心誘発が減弱されて CTA を獲得しなかった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.

PM2-05 Changes in the conditioned taste aversion induced by a metallothionein defect and low zinc bait in mice

○Yasuura N¹, Inui T², Sogawa N³, Funahashi M²

¹Dept Orthodont, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ²Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ³Dept Dent Pharmacol, Matsumoto Dent Univ

Metallothionein (MT) is a metal binding protein involved in regulation of zinc (Zn)- concentration in the cells. It is well known that expression levels of MT depend on plasma Zn-concentration, however, the role for MT in physiological functions still remains unclear. Therefore, we investigated the conditioned taste aversion (CTA) in the MT knockout (KO) and wild type (WT) mice fed with normal (WT-N, KO-N) or zinc-deficient diet (WT-D, KO-D). Animals received a conditioning procedure with a pairing of 0.2% saccharin and 0.3 M LiCl (1% BW, i.p.), and then the 2-bottle test (0.2% saccharin and water for a 30-min every 5 days) was performed. The saccharin preference ratio was less than 50% in WT-N, WT-D and KO-D on the test day 1 and 2. KO-N showed no significant decrease in the saccharin preference ratio (>50%). These results indicate acquisition of CTA has no relation to plasma Zn level, and higher plasma Zn-concentration that is due to overabsorption of zinc from the intestinal tract may elicit the absence of CTA in KO-N.

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

PM2-06 小細胞性網様体に存在する Phox2b 陽性ニューロンの電気生理学的・形態学的解析

○梶原 里紗^{1,2}, 中村 史朗¹, 中山 希世美¹, 望月 文子¹, 壇辻 昌典¹, 立川 哲史², 飯島 毅彦², 井上 富雄¹

¹昭大 歯 口腔生理, ²昭大 歯 麻酔

【目的】 Phox2b は自律神経系の分化・発生に関与する転写因子の一つで、これまで我々は三叉神経運動核背側 (RdV) に存在する Phox2b 陽性ニューロンの特性について報告してきた。本研究では、三叉神経運動核尾側の小細胞性網様体 (PCRt) に存在する Phox2b 陽性ニューロンの生理学的・形態学的特性を解析した。

【方法】 実験には生後 3-9 日齢の Phox2b-EYFP ラットの矢状断脳幹スライス標本を用い、PCRt の Phox2b 陽性ニューロンからパッチクランプ記録を行った。記録後、バイオサイチンによる細胞内染色を行った。

【結果と考察】 PCRt の Phox2b 陽性ニューロン (n = 55) の受動的膜特性は、近傍に存在する Phox2b 陰性ニューロン (n = 55) と比較し有意な差はみられなかった。発火頻度の解析では、高頻度発火する Phox2b 陽性ニューロン (HF 型) が 29.1% (16/55)、低頻度発火するニューロン (LF 型) は 70.9% (39/55) であった。一方 Phox2b 陰性ニューロンでは、HF 型が 45.5% (25/55)、LF 型が 54.5% (30/55) であった。また、自発発火を示すニューロンの割合は、Phox2b 陽性ニューロンで 14.5% (8/55)、陰性ニューロンで 41.8% (23/55) であった。RdV の電気刺激には 62% の Phox2b 陽性ニューロン (13/21) が応答したが、孤束核の刺激には 9% の Phox2b 陽性ニューロン (1/11) しか応答しなかった。バイオサイチン染色では、三叉神経運動核内に軸索が投射している PCRt Phox2b 陽性ニューロンが存在した。以上の結果から、PCRt の Phox2b 陽性ニューロンは電気生理学的にいくつかの種類に分けられ、異なる領域の Phox2b 陽性ニューロンから入力を受け、顎運動の制御に関わる可能性が考えられた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM2-06 Electrophysiological and morphological analysis of Phox2b-positive neurons situated in the parvocellular reticular nucleus in rats

○Kajiwara R^{1,2}, Nakamura S¹, Nakayama K¹, Mochizuki A¹, Dantsuji M¹, Tachikawa S², Iijima T², Inoue T¹

¹Dept Oral Physiol, Sch Dent, Showa Univ; ²Div Dent Anesthesiol, Sch Dent, Showa Univ

Phox2b, a member of homeodomain transcription factors, is critical for the development of the central and peripheral autonomic nervous systems. We have previously reported the characteristics of Phox2b-positive neurons in the reticular formation dorsal to the trigeminal motor nucleus (RdV). In this study, we investigated the properties of Phox2b-positive neurons in the parvocellular reticular nucleus (PCRt) in using Phox2b-EYFP knock-in rats. Whole-cell recording were performed from Phox2b neurons in PCRt using sagittal brainstem slices of P3-9 Phox2b-EYFP rats. Then, recorded neurons were stained with biocytin. The majority of Phox2b-positive neurons (70.9%, 39/55) showed low-frequent firing, whereas about half of Phox2b-negative neurons (45.5%, 25/55) showed high-frequent firing. Fifteen percent (8/55) of Phox2b-positive neurons and forty-eight percent (23/55) of Phox2b-negative neurons were spontaneously active. About half (13/21) of Phox2b-positive neurons evoked postsynaptic currents in response to electrical stimulation of RdV, but only 9% (1/11) responded to electrical stimulation of the nucleus of the solitary tract. Axon of a few Phox2b-positive neurons sent their axons to the trigeminal motor nucleus. These results suggest that Phox2b-positive neurons in PCRt have diverse electrophysiological, synaptic and morphological properties, which may be related to jaw movement control.

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

PM2-07 三叉神経節ニューロンの機械刺激時の細胞間コミュニケーション

○矢崎 龍彦¹, 石崎 元樹¹, 松永 真由美¹, 大山 定男², 黒田 英孝³, 木村 麻記²,
澁川 義幸², 一戸 達也¹

¹東歯大 麻酔, ²東歯大 生理, ³神歯大 院歯 全身管理医歯

【緒言】近年、ニューロンと非ニューロン細胞間における傍分泌性連絡が多く報告されている。この連絡はニューロンから放出される物質とその受容体によって確立されるが、ニューロン同士の細胞間連絡についての報告はまだ無い。本研究ではニューロンへの直接機械刺激により放出が予想される拡散性因子が、隣在するニューロンとの間で細胞間ネットワークを確立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から麻酔下に三叉神経節細胞を取り出し、急性単離した。その後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 ならびに 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⁺ 濃度の記録を行った。標準細胞外液には等張性 Hank's 溶液を使用し、微小ガラス管により細胞に直接機械刺激を加えた際の細胞内遊離 Ca²⁺ 濃度変化を、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】Ca²⁺ 存在下において三叉神経節細胞へ直接機械刺激を行うと、直接刺激した細胞ならびに近傍の刺激していない細胞で細胞内遊離 Ca²⁺ 濃度が上昇した。また、繰り返し直接刺激を行っても細胞内遊離 Ca²⁺ 濃度増加は脱感作を示さなかった。Ca²⁺ 非存在下で直接機械刺激を行うと、直接刺激した細胞ならびに近傍の細胞における細胞内遊離 Ca²⁺ 増加は見られなかった。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】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM2-07 Mechanical stimulation-induced cell-to-cell communication in trigeminal ganglion neurons

○Yazaki T¹, Ishizaki M¹, Matsunaga M¹, Ohyama S², Kuroda H³, Kimura M², Shibukawa Y²,
Ichinohe T¹

¹Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dental Univ; ²Dept Physiol, Tokyo Dental Univ; ³Dept Crit Care Med Dent, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ

Recent studies have well described intercellular paracrine communication between neurons and non-neuronal cells. 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. In the presence of extracellular Ca²⁺, direct mechanical stimulation to the cells increased ([Ca²⁺]_i) in the stimulated neurons and nearby unstimulated neurons. In the absence of Ca²⁺, [Ca²⁺]_i increases could not be observed in the stimulated neurons and the nearby neurons. These results suggested that neurons that received mechanical stimuli are capable to release diffusible intercellular transmitter(s) to establish functional intercellular communication with surrounding neurons.

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

PM2-08 オプトジェネティクスによる島皮質から腕傍核への下行性投射の電気生理学的特性

○廣瀬 健佑^{1,2}, 中谷 有香², 武井 浩樹¹, 白川 哲夫¹, 小林 真之²

¹日大 歯 小児歯, ²日大 歯 薬理

口腔顔面領域における侵害情報は、一次求心性神経を介して主に三叉神経脊髄路核尾側亜核に投射し、外側脊髄視床路を介して一次体性感覚野へ、前脊髄視床路を介して前頭皮質および島皮質などの辺縁皮質へ伝達される。腕傍核には、呼吸・循環・味覚等複数の感覚情報が入力することが知られており、特に外側結合腕傍核（LPBN）には侵害情報が入力する。島皮質は痛みの情動的側面を担うと考えられており、島皮質から腕傍核へ投射しているが、その機能については明らかにされていない。そこで我々は、島皮質→腕傍核の下行性投射がLPBNのどのニューロンにシナプスを形成しているかを検索するために、GABA作動性ニューロンに緑色蛍光タンパク質（Venus）を発現させた遺伝子改変ラットを用いて島皮質にAAV5-CAG-HChR2（H134R）-mCherryの懸濁液を微量注入した。4-5週後に腕傍核を含む急性脳スライスを作製し、興奮性ニューロンすなわちVenus陰性ニューロンから全細胞パッチクランプ記録にて電気生理学的解析を行った。LED光でChR2を発現した島皮質→腕傍核下行性投射線維を選択的に刺激したところ、Venus陰性ニューロンから振幅の平均値が-13.2 pA、潜時の平均値が11.8 msからなる興奮性シナプス後電流（EPSC）を記録できた。また、電位依存性ナトリウムチャンネル遮断薬であるテトロドトキシンによってEPSCは消失し、カリウムチャンネル遮断薬である4-アミノピリジンでEPSCの回復を認めた。さらにAMPA受容体の遮断薬であるDNQXでEPSCの消失を認めた。したがって、島皮質→LPBN下行性投射はグルタミン酸作動性で、単シナプス性応答であると考えられた。一方、Venus陽性ニューロンは極めて少なく、光刺激で発生するEPSCの振幅もVenus陰性ニューロンより有意に小さいことが明らかになった。以上より、島皮質はLPBNに対して口腔顔面領域における侵害情報入力を増幅す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。

PM2-08 Electrophysiological characteristics of the descending projection from the insular cortex to the parabrachial nucleus revealed by optogenetics

○Hirose K^{1,2}, Nakaya Y², Takei H¹, Shirakawa T¹, Kobayashi M²

¹Dept Pediatr Dent, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

Ascending pathways of nociception consist of the spinothalamic and anterior spinothalamic tracts. The parabrachial nucleus (PB) directly and indirectly relays nociceptive information to the insular cortex (IC). On the other hand, the descending pathway from the IC to the PB is also reported. Therefore, it is likely that the IC regulates PB activities in accordance to ascending nociceptive information from the PB. However, little information is available in terms of descending effects in the IC-PB pathway. To investigate the physiological function of the IC-PB projection, we examined the synaptic properties of these synapses by injecting AAV5-CAG-HChR2(H134R)-mCherry into the IC of VGAT-Venus rats, in which either GABAergic or glutamatergic neurons are easily identified. One month after AAV5 injection, we recorded synaptic currents by whole-cell patch-clamp recording from PB neurons in response to blue-light stimulation. As a result, we obtained excitatory postsynaptic currents (EPSCs) whose average of the amplitude was -13.2 pA with a latency of 11.8 ms from Venus-negative neurons. In contrast, we found few Venus-positive neurons in the PB and these neurons exhibited only faint synaptic responses. These results suggest that IC neurons induced facilitative effects on PB excitatory neurons.

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

PM2-09 動物実験での新たな食感解析法の開発○中富 千尋¹, 堀江 成和^{1,2}, 宮村 侑一^{1,3}, 人見 涼露⁴, 小野 堅太郎¹¹九歯大 生理, ²九歯大 顎口腔機能矯正, ³九歯大 放射線, ⁴日大 歯 生理

ほくほく, もっちり, サクサク, ふわふわなど, 私たちが美味しさを感じる言葉 (オノマトペ) には, 食べ物の食感を表現したものが多く, このように, 食感はおいしさを決定する大きな要因であるにも関わらず, 食感認知に関する科学的知見はほとんどない. これは, 食感が様々な感覚が混ざり合った複合的な感覚であることや, 咀嚼の過程で刻一刻と変化する掴みどころのない特性を持っているためである. 我々はこれまで, 動物実験での口腔内の粘性物質識別能の解析が可能かを試みてきた. しかし, 増粘剤の多くは, 物理的性質の他に特有の風味を持っており, 粘性にターゲットを絞った解析が困難であった. そこで本研究では, 甘味を添加して増粘剤の風味を最小限に抑えることで, 食品の粘性識別能を評価する方法を開発することを目指した. 代表的な増粘剤であるカルボキシメチルセルロース (CMC) を試験物質として採用し, 雄性 Wistar ラットを用いた. 評価は二瓶選択法にて行った. まず, 水とサッカリン添加 CMC 溶液の嗜好比を測定した. 次に, サッカリン未添加 CMC 溶液に対して塩化リチウム投与による嫌悪条件づけを行ったところ, 1%CMC 溶液の嗜好性が低下したが, 0.1%CMC 溶液では嗜好性に変化は認められなかった. そこで, サッカリン未添加 1%CMC 溶液による嫌悪条件づけを行った後に, キサンタンガム増粘剤 (商品名: ツルリンコ, 3%) の嗜好性を測定したところ, 異なる風味を持つと思われるにも関わらず, 嗜好性の有意な低下が認められた. 以上の結果から, 1%CMC ではサッカリンを用いることで, 風味の影響を排除した粘性物質識別能の解析が可能であることが示唆された. 本研究の成果は, 食感研究の発展に貢献すると考える.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

PM2-09 The exploitation of the new analysis method of the oral texture perception○Nakatomi C¹, Horie S^{1,2}, Miyamura Y^{1,3}, Hitomi S⁴, Ono K¹¹Div Physiol, Kyushu Dent Univ; ²Div Orofac Funct Orthodont, Kyushu Dent Univ; ³Div Dent Radiol, Kyushu Dent Univ; ⁴Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

Many of the foods have the various physical properties such as viscosity, brittleness, particulate and elasticity. Despite the important role of the oral texture sensation in feeding behaviors, the mechanism of the oral texture perception remains to be elucidated. In this study, we tried to determine the ability of the oral viscosity sensation using behavioral experiments in Wistar male rats. Rat conditioned viscosity aversion tests were conducted to investigate the ability of the perception of the carboxy methylcellulose (CMC) solution. The saccharin was added in CMC solution to mask the CMC flavor. As a result, when rats were conditioned with saccharin-unadded 1% CMC (CMC (-)), the preference of the saccharin-added 1% CMC solution was significantly decreased compared with the control group. On the other hand, the preference ratio of the 0.1% CMC solution did not change. Our data suggests rats can recognize the viscosity of fluids. These animal behavioral experiments can help elucidate the mechanism of the oral texture perception.

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

PM2-10 麻酔下ラットにおける AMPA 受容体ポジティブアロステリックモジュレーターによる嚥下誘発への効果

○吉原 翠, 那小屋 公太, 辻村 恭憲, 井上 誠

新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ

【背景と目的】 誤嚥性肺炎は高齢者の主な死亡原因の一つであり, その発症には嚥下障害が深く関連していることが知られている. イオンチャネル型グルタミン酸受容体の一つである AMPA 受容体は, 延髄孤束核に発現しており, 同部への AMPA 受容体アゴニストの微量注入による嚥下誘発効果が報告されている. 本研究は AMPA 受容体アロステリックモジュレーターである LY404187 (LY) を全身投与し, 嚥下機能における効果を明らかにすることを目的とした.

【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. 喉頭ならびに気管切開後, 舌骨上筋および甲状舌骨筋から筋活動電位を導出し, 嚥下を同定した. 嚥下誘発刺激として気切部より喉頭側に向けたエアフロー機械刺激 (40 ml/s) を 10 秒間行い, 誘発嚥下回数および初回嚥下時の舌骨上筋および甲状舌骨筋の筋活動持続時間を計測した.

【結果と考察】 LY (1 mg/kg, s.c.) 投与 60 分後の嚥下誘発効果を検証したところ, 投与前と比較して, 投与後の誘発嚥下回数は有意に増加した. また, LY 投与後の誘発嚥下回数は, 生理食塩水を投与した対照群と比較しても有意に多かった. LY による嚥下促進効果は, AMPA 受容体アンタゴニストであるタランパネル (10 mg/kg, i.p.) の前投与により消失した. 一方, 嚥下時の舌骨上筋群および甲状舌骨筋の筋活動持続時間は LY 投与前後で差を認めず, LY による嚥下時筋活動への効果は明らかではなかった. LY は機械刺激誘発嚥下を促進し, その効果は AMPA 受容体を介するものであ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.

PM2-10 Effects of AMPA receptor positive allosteric modulator on initiation of swallows in anesthetized rats

○Yoshihara M, Nagoya K, Tsujimura T, Inoue M

Div Dysphagia Rehabil, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ

Objective: Aspiration pneumonia is one of the main causes of death in the elderly and due to swallowing disorder. It was reported that AMPA receptors are expressed in the nucleus tractus solitaries (nTS) and microinjection of AMPA agonist within nTS evokes swallows in animals. We examined that the effect of systemic administration of AMPA allosteric modulator, LY404187 (LY) on swallowing function.

Methods: Experiments were carried out on Sprague-Dawley male rats anesthetized with urethane. To identify a swallow, electromyographic (EMG) activity was recorded from suprahyoid and thyrohyoid muscles. The number of swallows evoked by mechanical airflow (40 ml/s) to the larynx and duration of EMG activity during swallowing were compared before and after LY (1 mg/kg, s.c.) administration.

Results and discussion: The number of swallows after LY administration was significantly increased compared with before administration. That after LY administration was also significantly higher compared with saline administration. Talampanel (AMPA antagonist) pre-administration diminished the facilitatory effect of LY on initiation of swallows. The duration of EMG activity did not differ before and after LY administration. We suggested that LY facilitated initiation of airflow-induced swallows and the facilitatory effect was mediated by AMPA receptors.

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

PM2-11 慢性閉塞性肺疾患（COPD）に起因する嚥下機能低下の生理学的検証

○那小屋 公太, 辻村 恭憲, 吉原 翠, 井上 誠

新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ

【目的】慢性閉塞性肺疾患（COPD）は本邦において約 530 万人が罹患していると言われており、高齢化に伴いさらに罹患者数が増加すると考えられている呼吸器疾患である。COPD の主症状として、労作時呼吸困難や慢性の咳、痰が知られているが、嚥下機能低下を伴う場合が多く、その特徴は多岐にわたっている。嚥下機能低下を伴う COPD の臨床報告は多数存在するが、COPD が嚥下動態へ及ぼす生理学的影響についてはよくわかっていない。そこで本研究は COPD モデルラットを作成し、COPD がもたらす嚥下への影響を検証することを目的とし実験を行った。

【方法】SD 雄性ラット気管内へエラスターゼ、LPS を投与し COPD モデルを作成し、CT 評価および HE 染色にて気腫性病変の存在を確認した。ウレタン麻酔下で、気管切開後、舌骨上筋および甲状舌骨筋、横隔膜から筋活動電位を導出し、嚥下と呼吸を記録した。上喉頭神経（SLN）電気刺激にて嚥下を誘発し、嚥下筋活動や呼吸筋活動をコントロール群と比較した。

【結果】CT 評価では LPS 投与 6 週目に肺全体の 26.9% に低吸収領域を認め、気腫性病変の存在が確認された。また、肺の HE 染色では組織破壊を認め、COPD モデルの確立が確認された。COPD モデルはコントロール群と比較し有意な吸気の延長と呼気の短縮を認め、呼吸バランスが崩れていることがわかった。COPD モデルにおいて SLN 電気刺激により誘発された嚥下反射の多くは吸気時に認められたが、COPD モデルとコントロール群では嚥下反射惹起までの潜時に有意な差は認められなかった。また、LPS 投与 9 週目で COPD モデルはコントロール群と比較し体重増加率の有意な低下を認めた。

【考察】COPD は嚥下動態自体には大きな影響を与えないが、呼吸バランスが崩れることによって誤嚥リスクを高め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。

PM2-11 Physiological analysis of swallowing disorder caused by chronic obstructive pulmonary disease (COPD)

○Nagoya K, Tsujimura T, Yoshihara M, Inoue M

Div Dysphagia Rehabil, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ

Objective: Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is the respiratory illness, of which the number of patients is expected to increase with age. Dyspnea and cough, sputum are known as the main symptom of COPD. In addition, it is often accompanied by swallowing disorder. However, physiological change of swallowing caused by COPD still remains unknown. We analyzed how COPD contributes to swallowing impairment using COPD model rats.

Methods: We produced COPD rats by intratracheal administration of elastase and LPS for SD rats. Examinations were carried out on COPD and control rats anesthetized with urethane. To identify swallowing and respiration, electromyographic (EMG) activity was recorded from suprahyoid and thyrohyoid muscles and diaphragm. Swallowing was evoked by supralaryngeal nerve (SLN) electrical stimulation.

Results: We confirmed COPD condition by CT images and HE staining of lung. Inspiratory duration of COPD rats was significantly longer, whereas expiratory duration was significantly shorter compared with control rats. Swallowing elicited by SLN stimulation occurred at inspiration phase in almost all of COPD rats. Swallowing latency did not differ between COPD and control rats.

Summary: We suggested that COPD does not affect the swallowing function but changes respiratory cycles, which may cause a high risk of aspiration.

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

PM2-12 老齢マウスにおける唾液腺機能と分泌タンパク関連遺伝子の解析

○山田 真紀雄, 向坊 太郎, 近藤 祐介, 宗政 翔, 野代 知孝, 堀 裕亮, 正木 千尋,
細川 隆司

九歯大 口腔再建リハ

【目的】 加齢による唾液腺機能変化の詳細は未だ不明な点が多い。本研究では雄雌それぞれの高齢マウス（20-26ヶ月齢）を使用し、加齢に伴って唾液腺で変化する遺伝子・タンパクを解析することを目的とした。

【方法】 C57BL/6J マウスの10-12週齢を若齢群、20-26ヶ月齢を高齢群とし、それぞれの群で雄雌5匹ずつを用いて実験を行った。各群の比較において唾液腺機能評価、組織形態学的評価、および遺伝子発現の評価を行った。唾液腺機能評価ではムスカリン受容体作動薬 Carbachol, 非選択的 β 作動薬 Isoproterenol を用いた *Ex vivo* 灌流モデルにて顎下腺、舌下腺唾液分泌機能を評価した。また、組織学解析として Hematoxylin-Eosin (HE) 染色を行った。定量 PCR により、水分泌に関連する遺伝子発現、分泌タンパクに関連する遺伝子発現の評価を行った。

【結果・考察】 *Ex vivo* 灌流モデルにおいて、顎下腺の唾液分泌量は雄の高齢群で若齢群よりも有意に減少した。一方で雌においては唾液分泌量に差は認めなかった。舌下腺の唾液分泌量は雄雌ともに高齢群、若齢群で有意差を認めなかった。HE 染色においては、高齢群の雄雌ともに顎下腺、舌下腺でリンパ球の浸潤を示した。水分泌に関与するタンパクの Aquaporin 5 をコードする遺伝子 *Aqp5*, ムチンタンパクをコードする遺伝子である *Muc10* の発現量は雌の高齢群でのみ低下していた。以上の結果より、加齢により顎下腺の唾液分泌量や分泌タンパク遺伝子の発現に変化が生じ、さらにその変化には性差があ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。

PM2-12 Analysis of fluid secretion and gene expression of secretory proteins in aged mouse salivary gland

○Yamada M, Mukaibou T, Kondo Y, Munemasa T, Nodai T, Hori Y, Masaki C, Hosokawa R

Div Oral Reconstr Rehabil, Kyushu Dent Univ

Purpose: In this study, we aimed to investigate the alteration of secretory proteins and encoded genes in aged male and female mice.

Materials & Methods: 10-12-week-old and 20-26-months old C57BL/6J mice were designated as young and aged mice, respectively. We assessed the physiological function, histology, and gene expression in the sublingual gland (SLG) and submandibular gland (SMG) of young and aged mice. In the functional study, the SLG and SMG were isolated, perfused, and stimulated with carbachol (CCh) and Isoproterenol (IPR), and the saliva was collected. Each gland for both groups was stained with hematoxylin and eosin (H&E). Quantitative PCR was performed, targeting genes that encode proteins associated with secretory proteins and fluid secretion.

Results & Conclusion: The secreted saliva amount in SMG in aged male mice was significantly decreased, whereas there was no change in female SMG. H&E staining showed lymphocyte infiltrations in SLG and SMG. Quantitative PCR revealed the downregulation of *Muc10* gene only in female SMG. The results suggest that the influence of aging in fluid secretion and secretory protein's gene expression has sexual dimorphisms.

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

PM2-13 マウス味覚器におけるヒアルロン酸シグナルの機能解明

○渡邊 雄^{1,2}, 高井 信吾¹, 重村 憲徳^{1,3}

¹九大 院歯 口腔機能解析, ²九大 院歯 インプラント, ³九大 五感応用デバイス研究開発セ

【目的】味蕾の恒常性は、継続的な味細胞のターンオーバーにより維持されている。全ての味細胞はその前駆細胞から分化するが、その分化調節および味蕾全体のターンオーバーの詳細なメカニズムには不明な点も多い。本研究では、細胞外基質の主要な構成成分であり、細胞の分化・増殖・遊走への関与も報告されているヒアルロン酸（以下 HA）に着目し、末梢味覚器における HA シグナリングの働きを探索した。

【方法】C57BL/6J マウスを用いて、味蕾を含む有郭乳頭（CV）と茸状乳頭（FP）および味蕾を含まない舌上皮から mRNA を抽出し、RT-PCR により HA 関連分子の発現を検索した。また、免疫組織染色、in situ hybridization により HA 関連分子の味覚器における局在を調べた。さらに、マウス有郭乳頭から作製した三次元器官培養系（味蕾オルガノイド）を用いて、HA 合成阻害薬 4MU（4-Methylumbelliferon）を投与した際の味蕾オルガノイドの形態、味細胞マーカー、HA 関連分子の発現の変化について調べた。最後に、4MU を 40 日間継続して経口投与することにより、マウスの味覚器における HA シグナリング阻害の影響を in vivo で探索した。

【結果と考察】RT-PCR の結果、CV と FP において HA 受容体である CD44、RHAMM mRNA の発現を認めた。さらに、HA 合成酵素の Has2、Has3（Hyaluronan synthase）と分解酵素の Hyal1-4（Hyaluronidase）mRNA の発現を見出した。免疫組織染色では、CD44 が CV 領域に広範囲に発現していた。味蕾オルガノイドを用いた解析では、4MU の添加により、味蕾オルガノイドのサイズの有意な減少が認められた。in vivo で 4-MU を投与した実験では、味細胞関連 mRNA 発現量に有意な変化はなかったが、4MU の濃度に応じて Vimentin と Lgr5 の mRNA 発現量の減少が認められた。以上の結果から、HA は味蕾および周囲組織で合成と分解が行われており、味細胞に発現する HA 受容体を介して直接作用し、味細胞の分化・増殖を調節することで味蕾のホメオスタシス維持に関与す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。

PM2-13 Function of hyaluronic acid signaling in mouse taste organs

○Watanabe Y^{1,2}, Takai S¹, Shigemura N^{1,3}

¹Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Sect Implant Rehabil Dent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ³R&D Center for Five-Sense Devices, Kyushu Univ

The homeostasis of taste buds is maintained by continuous taste cell regeneration, but the molecular mechanism underlying the cell regeneration is not fully understood. In this study, we focused on hyaluronic acid (HA), a major constituent of extracellular matrix, which regulates cell differentiation, proliferation, and migration in various organs. We therefore investigated the involvement of HA signaling in peripheral taste organ homeostasis in mice. The mRNAs of HA receptors: CD44, RHAMM, HA synthetases: Has2, 3 and degrading enzymes: Hyal1-4 mRNA were observed in taste organs such as circumvallate (CV) and fungiform papillae. Immunohistochemical showed that CD44 was widely expressed in CV. Additionally, we looked at the effect of HA synthetase inhibitor 4MU (4Methylumbelliferon) on taste bud organoid culture. The organoids treated with 4MU significantly reduced their size. Moreover, oral administration of 4MU significantly decreased the mRNA expression levels of vimentin and Lgr5 stem/progenitor cell markers depending on the 4MU concentration in vivo, without any changes in those of other taste cell markers. These results suggest that HA is synthesized and degraded in the taste organs, and may regulate vimentin and Lgr5 expression in taste cells through its receptors, CD44 and/or RHAMM, which may contribute to maintain the homeostasis of taste buds.

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

PM2-14 口腔粘膜創傷治癒におけるアクトミオシン細胞骨格の変化と TRPV4 の影響

○吉本 怜子¹, 合島 怜央奈², 高 イキ¹, 曹 愛琳^{1,3}, 本田 裕子¹, 内野 加穂¹, 澤田 孟志¹, 清島 保³, 城戸 瑞穂¹

¹佐賀大 医 組織・神経解剖, ²佐賀大 医 歯科口腔外科, ³九大 院 歯 口腔病理

上皮は外的刺激から生体内部を防御しており, 損傷を受けた場合は速やかな治癒が求められる. 治癒過程では上皮細胞の細胞間接着や細胞移動がダイナミックに変化する. 我々は, 温度・機械感受性の Ca²⁺ 透過性陽イオンチャネル transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) が口腔上皮に発現し, 細胞間接着や細胞の増殖, 移動を制御することを見出したことから, 治癒における TRPV4 の影響を明らかにすることを目的とし, 研究を行った. 8週齢の C57BL/6 野生型 (WT) マウスあるいは TRPV4 遺伝子欠失 (TRPV4KO) マウスの硬口蓋に直径 1.5 mm の円型の創を作製し, 術後 2, 3, 4 日目のマウスを灌流固定した. 再生上皮における細胞間接着分子および細胞骨格分子の局在を知るため, 免疫組織化学染色を施し, 共焦点レーザー顕微鏡にて撮像し ImageJ にて画像解析を行った. 術後 3 日目の創の面積および幅は WT より TRPV4KO で有意に小さかった. TRPV4KO の再生上皮では, WT と比べて E-cadherin で示される細胞間隙が広く認められた. また, F-actin とともに細胞間接着や運動に関与するリン酸化ミオシン調節軽鎖 (Thr18/Ser19) は, 非受傷部と比べて再生上皮で強く線維状に局在を認め, TRPV4KO では WT より強く認められた. さらに, TRPV4KO 由来の口腔上皮初代培養細胞では, WT と比べて細胞移動が亢進し, リン酸化ミオシン調節軽鎖の染色陽性が強かった. したがって, TRPV4 は細胞骨格の調節を介して口腔粘膜の創傷治癒過程を制御していることが示唆された.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

PM2-14 Effect of TRPV4 on oral mucosal wound healing and regulation of actomyosin cytoskeleton

○Yoshimoto RU¹, Aijima R², Gao WQ¹, Cao AL^{1,3}, Honda Y¹, Uchino K¹, Sawada T¹, Kiyoshima T³, Kido MA¹

¹Div Histol Neuroanat, Fac Med, Saga Univ; ²Dept Oral Maxillofac Surg, Fac Med, Saga Univ; ³Sect Oral Pathol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

Epithelia protect our body from the external stimuli and rapid healing is needed after injury. Previously we demonstrated the expression of thermo/mechano-sensitive Ca²⁺ permeable cation channel transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) in oral epithelia. We found that TRPV4 regulated epithelial cell-cell contact, cellular proliferation, and migration in the oral mucosal membrane. Thus, in this study, we aimed to clarify the effect of TRPV4 on oral wound healing processes. Palatal mucosa of 8-week-old C57BL/6 mice (WT) or TRPV4-deficient mice (TRPV4KO) were wounded using a 1.5 mm diameter biopsy punch. On 2, 3, or 4 days after wounding, mice were perfused with 4% paraformaldehyde for histological analysis. The wounded area or width on day 3 was significantly smaller in TRPV4KO than in WT. Immunohistochemistry revealed the wider intracellular spaces shown by E-cadherin and more distinct fibrous staining of di-phosphorylated myosin regulatory light chain (Thr18/Ser19) with filamentous actin, which can affect the cellular motility or cell-cell contact, in regenerating epithelia of TRPV4KO compared with those of WT. These results suggested that TRPV4 could modulate actomyosin function in the processes of wound re-epithelialization.

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

PM2-15 口内炎モデルラットにおけるステロイド軟膏の効果

○浪花 真子^{1,2}, 中富 千尋¹, 人見 涼露³, 松田 一成⁴, 小野 堅太郎¹

¹九歯大 院歯 生理, ²九歯大 院歯 口腔保健, ³日大 歯 生理, ⁴第一三共ヘルスケア (株)

口内炎は歯科臨床でよくみられる粘膜疾患であり, 日常生活に支障をきたすことも少なくない. 触ったときはもちろん, 何もしていない時でさえジンジンと痛みを感じる. 治療薬に抗炎症作用を有するステロイド軟膏がよく処方されるが, 詳細な疼痛抑制機序は不明である. 本研究は口内炎疼痛に対するステロイド軟膏の効果と作用機序について口内炎モデルラットを使用して検討することを目的とした. ステロイド軟膏を確実に奏効させるために軟膏基剤の口腔内での長期残存が必要であると考え, プラスティベース (PB), トラフル軟膏基剤 (TO) など多種の軟膏基剤の物性測定とヒト官能試験により付着性と残留性を評価した. その結果, TO が最も残留性に優れていたため, 以降の動物実験では高残留性基剤として TO, 低残留性基剤として PB を使用した. 雄性 Wistar ラットを用いて酢酸誘発性口内炎を作製した. 実験群は無処置 (NT) 群, TO 群, TO+ トリアムシノロンアセトニド (Tmc) 群, PB+Tmc 群とし, 軟膏を 2 回塗布した後以下の評価を行った. 行動学的解析にて自発痛と接触痛を測定した. グルココルチコイド受容体 (GR) 標的遺伝子の *IRAKM*, *GILZ*, *MKPI*, および *TNF- α* と *COX₂* の遺伝子発現を定量性 RT-PCR にて, PGE₂ のタンパク質量を ELISA にて測定した. 自発痛と接触痛は TO+Tmc 群で NT 群と比較して抑制された. GR 標的遺伝子の発現は TO+Tmc 群で NT 群よりも増加し, *TNF- α* と *COX₂* は低下した. PGE₂ は TO+Tmc 群で有意に低下した. 以上の結果から, 高残留性ステロイド軟膏は自発痛と接触痛を抑制することが口内炎モデルラットでも確認され, 本モデルがヒトの口内炎状態を呈すものとして妥当であったことが示された. さらに, *COX₂* や PGE₂ の発現量を低下させることで疼痛が抑制されたと考えられるが, これまでに口内炎の接触痛は COX 非依存性に誘発されることが報告されており, ステロイド軟膏による接触痛の抑制機序に関しては今後の検討課題である.

【利益相反】 著者は利益相反状態にあります.

PM2-15 Effect of steroid ointment in an oral ulcer model rat

○Naniwa M^{1,2}, Nakatomi C¹, Hitomi S³, Matsuda K⁴, Ono K¹

¹Div Physiol, Kyushu Dent Univ; ²Div Oral Health Sci, Kyushu Dent Univ; ³Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent; ⁴Daiichi Sankyo Healthcare Co, Ltd

Oral ulcerative mucositis (OUM) is the most common oral disease and leads to pain during meals and speaking, reducing the quality of life of patients. Steroid ointments are commonly prescribed for OUM, but why they reduce the pain is unknown. The purpose of this study is to examine the effect and mechanism of steroid ointments for OUM pain. We compared the physical and sensory properties of various ointment bases. As the result, traful ointment base (TO) showed the highest persistence. We used an acid-induced OUM model rats. After applying ointments, spontaneous pain and mechanical allodynia was suppressed by TO+Tmc group, compared with NT group. In TO+Tmc group, mRNA level of the glucocorticoid receptor target genes was increased while *TNF- α* and *COX₂* were decreased. PGE₂ was significantly decreased in TO+Tmc group than in NT group. From these results, it was confirmed that steroid ointment suppressed OUM pain in rats. Furthermore, it is considered that pain was suppressed by decreasing the expression levels of *COX₂* and PGE₂. However, it has been reported that mechanical allodynia due to OUM is induced in a COX-independent manner, so the mechanism of suppression of mechanical allodynia by steroid ointment must be elucidated in the future.

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

PM2-16 歯周炎による歯周組織の機械痛覚変調に対する酪酸の関与

○村上 尚希^{1,2}, 佐藤 秀一¹, 岩田 幸一², 篠田 雅路²

¹日大 歯 保存Ⅲ, ²日大 歯 生理

【目的】歯周炎は歯周組織の破壊や骨吸収を伴った疾患であるにも関わらず、痛みを伴わずに進行することが知られている。しかし、その歯周組織痛覚変調メカニズムに関しては、不明な点が多い。本研究では、歯周病原菌 *Porphyromonas gingivalis* (P. g.) が産生する短鎖脂肪酸の一つである酪酸に着目し、歯周炎による歯周組織の機械痛覚変調に対する酪酸の関与について検討した。

【方法】浅麻酔下にて上顎第二臼歯の周囲に5-0絹糸を結紮後、絹糸周囲にP. g.を播種して歯周炎モデルマウスを作製した。結紮後14日間、浅麻酔下にて上顎第二大臼歯歯頸部歯肉に electronic von Frey を用いて機械刺激を行い、逃避反射閾値を測定した。結紮後2日目、イオンクロマトグラフィーを用いて歯頸部歯肉の酪酸を定量し、三叉神経節における酪酸の受容体であるGPR41の発現を免疫組織化学的に解析した。また、結紮後14日間、歯頸部歯肉にGPR41アンタゴニストである（ヒドロキシ酪酸）を連日投与し、同部位における機械刺激に対する逃避反射閾値を測定した。

【結果】結紮後14日間、歯頸部歯肉への機械刺激に対する逃避反射閾値に変化は認められなかった。結紮後2日目、歯頸部歯肉の酪酸量が増加し、三叉神経節ニューロンにおいてGPR41の発現を認めた。ヒドロキシ酪酸の連日投与開始後8日目より、歯頸部歯肉への機械刺激に対する逃避反射閾値が有意に低下した。

【考察】P. g. が産生する酪酸がGPR41を介して歯周炎発症に起因した三叉神経節ニューロン興奮性を抑制することにより、歯周組織の疼痛が減弱され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。

PM2-16 Butyric acid modulates periodontal mechanical sensitivity in periodontitis in mice

○Murakami N^{1,2}, Sato S¹, Iwata K², Shinoda M²

¹Dept Periodontol, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

It is well known that periodontitis progresses accompanied by alveolar bone loss and inflammation without pain, however the mechanism is poorly understood. In this study, we examined the involvement of butyric acid in the changes in periodontal mechanical sensitivity in *Porphyromonas gingivalis* (P. g.) induced periodontitis model in mice.

A silk ligature was tied around the maxillary second molar, and P. g. was inoculated there. Mechanical stimulation was applied to the gingival tissue adjacent to the ligature by using electronic von Frey anesthesiometer and the mechanical head withdrawal threshold (MHWT) was measured for 14 days. On day 2 following the P. g. inoculation, the expression of short-chain fatty acid receptor, GPR41, in trigeminal ganglion and the amount of butyric acid in the inflamed periodontal tissue were analyzed. Moreover, we examined the changes in the MHWT by daily intra-periodontal GPR41 antagonist, hydroxybutyric acid administration.

There was no change in the MHWT for 14 days following the P. g. inoculation. GPR41 was expressed in trigeminal ganglion neurons. Butyric acid was increased on day 2 and the hydroxybutyric acid administration decreased the MHWT after the 8th day following the P. g. inoculation.

Butyric acid in the periodontal tissue may contribute to periodontal mechanical sensitivity in P. g. induced periodontitis.

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

PM2-18 霊長類を用いた歯髄再生制御機構の定量的蛍光イメージング解析

○戸井田 侑, 佐藤 孝紀, 飯村 忠浩

北大 院歯 細胞分子薬理

【背景】組織再生治療において、実質細胞、間質細胞、神経や血管など、様々な系譜の細胞群による時空間的に統合された組織構築を達成することが不可欠である。断髄後の組織再生制御には不明な点が多く、モデル動物としてよく用いられる齧歯類とヒトでは組織構築が異なることが問題となる。本研究では、霊長類のモデル動物であるカニクイザルを用いて、マクロファージに注目した歯髄再生制御機構を探索した。

【方法】全身麻酔下で、カニクイザルの歯を切削しMTAセメントと水酸化カルシウムそれぞれの覆髄材を貼付し、処置後3,7,70日後に、検体を採取・固定し、歯髄再生過程を形態学的に観察した。また、硬組織、神経、血管、マクロファージの相互動態を観察するために種々の蛍光免疫組織観察を行った。さらに、マクロファージの多様な動態と硬組織再生の相関を探索するために、蛍光ボリュームイメージング法を応用した組織定量解析を行った。

【結果】MTAセメントによる覆髄処置をした場合、象牙質の再生を含めた安定した組織構築が観察された。一方で、水酸化カルシウムを用いた場合、不定形の骨あるいは軟骨様組織を含む象牙質様組織の再生が観察された。また、この場合、硬組織の再生量も少なかった。さらに、歯髄内組織マクロファージの時空間動態や形態学的動態と組織再生の成否に強い相関があることを明らかにした。

【考察】断髄後の象牙質の適切な再生過程には、マクロファージによる炎症および組織再生の制御が重要であることが示唆された。また、本研究における解析法は、歯髄再生の評価系としても有用であると考えられた。

【会員外共同研究者】川野 晋平, 井上 哲, 佐野 英彦

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

PM2-18 Quantitative fluorescence imaging analysis of tooth pulp regeneration in primate model

○Toida Y, Sato T, Iimura T

Dept Mol Cell Pharmacol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

In tissue regeneration, it is important to achieve a spatiotemporally integrated tissue construction by cell groups of various lineages. Although much knowledge has been obtained regarding the induction and differentiation of individual lineage cells, controlling integrated tissue organization is a major issue. Recently, it has been noted that macrophages play important roles in the healing and regeneration process of damaged tissues. It is an issue that distinct tissue structure and regeneration process in rodents with those in primates preclude unveiling critical process to understand human tissue regeneration. In this study, pulpectomy was conducted in cynomolgus monkey tooth under general anesthesia, and then, different pulp capping materials were applied. We analyzed pulp regeneration process using immunohistochemistry-based quantitative fluorescence imaging. There was a correlation between the morphological dynamics of tissue macrophages and the success or failure of tissue regeneration. Our data suggested that regulation of spatiotemporal macrophage dynamics could be a key factor for proper dentin and tooth pulp regeneration in primates. Furthermore, it is suggested that our quantitative fluorescence imaging analysis of macrophage dynamics could provide a valuable method for evaluating tissue regeneration.

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

PM2-19 PTH 製剤は骨コラーゲン線維の連続性を高める-非線形光学を応用した霊長類椎体骨コラーゲンの定量的トポロジー解析-

○佐藤 孝紀, 戸井田 侑, 飯村 忠浩

北大 院歯 細胞分子薬理

【背景】骨粗鬆症は老化および閉経に伴う骨密度の減少ならびに骨質の低下に起因する骨の脆弱化疾患であり、治療薬の一つである PTH 製剤：テリパラチド（以下 TPTD）は、骨形成効果および骨粗鬆症性骨折の予防効果が認められている。近年、骨の構成成分であるコラーゲンの生化学的性状が骨強度に深く関与していることが明らかにされ、骨質を規定する重要な因子の一つであることが認識されてきた。しかしながら、コラーゲン線維のトポロジー特性が骨質を規定するかどうかに関する知見はない。そこで本研究では、先進の非線形光学を応用した SHG イメージング法（Second Harmonic Generation）ならびに AI による自動形態認識方法を応用し、コラーゲン線維のトポロジー特性を定量評価するための、新たな骨質評価方法の確立を目的とした。また、この手法による TPTD の新たな薬理作用の解明を行った。

【方法】対象検体は、現在ヒトに最も類似する骨構造・代謝サイクルを有する実験動物であるカンクイザルを用いた。サル卵巣摘出骨粗鬆症モデル（9~15 歳齢）に対して TPTD（低用量群：1.2 μ g/kg, 高用量群：6.0 μ g/kg）を週 1 回の頻度で 18 ヶ月間投与した。投与終了後、第 7 腰椎を採取し非脱灰骨組織切片を作成した。骨形態計測法により骨量および骨代謝回転を定量した。さらに、SHG イメージングと画像解析を行い、骨内コラーゲン線維のトポロジー特性を定量的に解析した。

【結果・考察】リモデリングが旺盛である中央背側の二次海綿骨において、骨形成面に沿った新生コラーゲン線維の連続的な走行が TPTD の投与用量依存的に認められた。本解析によって、骨コラーゲン線維のトポロジー特性を可視化・定量化できることが可能になった。また、TPTD の骨質改善効果にはコラーゲンの生化学的性状のみならず、コラーゲン線維のトポロジー特性も貢献することが明らかとなった。

【非会員共同研究者】高倉 綾, 高尾 亮子（旭化成ファーマ社）

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

PM2-19 Teriparatide administration augments the linearity of bone collagen fibers-quantitative collagen topology analyses by an advanced nonlinear optics imaging-

○Sato T, Toida Y, Iimura T

Dept Mol Cell Pharmacol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Teriparatide (TPTD) is an anti-osteoporotic human PTH analogue. The biochemical properties of bone collagen define bone quality. However, quantification of topological properties of bone collagen has not been well established. This our study took novel combinatorial approach of an advanced nonlinear optics imaging (SHG: Second Harmony Generation) and an automatic morphological recognition method to establish an innovative bone quality evaluation system. We took cynomolgus monkey as a model animal to fill the critical gap between human and conventional rodents in terms of bone metabolism and its pharmacological evaluation. TPTD (low dose group: 1.2 μ g/kg, high dose group: 6.0 μ g/kg) was administered once a week for 18 months to ovariectomized osteoporosis model. After the administration, the 7th lumbar vertebra of cynomolgus monkeys was analyzed by bone morphometry and SHG imaging. In the secondary cancellous bone, on the dorsal side of the center, where remodeling was active, collagen fiber migration synchronized with bone formation in a dose-dependent manner of TPTD. This analysis enables to visualize and quantify the topological properties of bone collagen fibers and bundles. Moreover, not only the biochemical properties of collagen but the topological properties of collagen fibers contribute to improve osteogenic effect of TPTD.

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

PM2-20 競合 FRET 法を使った蛍光センサーの開発

○Jahan Azmerree, 根津 顕弘, 谷村 明彦

北医療大 歯 薬理

PM2-20 Development of fluorescent biosensors using competitive FRET analyses

○Jahan A, Nezu A, Tanimura A

Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Purpose: We previously developed a Fluorescent resonance energy transfer (FRET)-based fluorescence IP₃ biosensor, LIBRA, that contains a ligand binding domain of IP₃R (LBD) fused between ECFP and EYFP. To further improve the dynamic range (changes in fluorescence ratio), we developed a new method “Competitive Fluorescence Ligand Assay for IP₃ (CFLA-IP₃)”. This method uses the binding of two types of fluorescent molecules, fluorescent ligands (FL) and fluorescent IP₃ binding protein (LBP), and this FRET signal was ~10-times larger than that of the maximal effect of IP₃ on LIBRA. We also applied the competitive FRET to the antigen-antibody reaction, and we call this new method “CFAA (Competitive fluorescence Antigen Assay)” using an antigen-antibody reaction.

Methods: LBPs were constructed by conventional molecular biological methods, and were transfected to COS-7 cells using LipofectAMINE 2000. Cytosolic LBPs (cyLBPs) were extracted from the expressing cells, and incubated with DYK beads or TALON beads to make fluorescent beads. Fluorescence was measured with the excitation at 435 nm and dual emissions at 480 nm and 535 nm using imaging system.

Results and Discussions: We constructed five variants of plasma membrane-targeted LBPs with the ligation of circularly permuted ECFPs between 2nd and 3rd α -helix of LBD, and the resulting constructs were named LBP-cpC50, LBP-cpC157, LBP-cpC173, LBP-cpC195 and LBP-cpC229. Among them, two variation, LBP-cpC157 and LBP-cpC173, responded with the fluorescent ligand and the changes in fluorescence ratio was two times larger than that of the previous biosensor LIBRAvIIS-Vd. A high-affinity FL (F-ADA, 100 nM) reduced 480 nm (LBP) fluorescence by ~60%, and increased 535 nm (FL) fluorescence by ~70%, and reduced the fluorescent ratio (480 nm/ 535 nm) by ~45%. A low-affinity FL (F-LL, 10-300 nM) also reduced the fluorescent ratio by 19-42% in a concentration-dependent manner, and the subsequent addition of IP₃ restored the ratio. Similar results were obtained with the fluorescent beads made with cytosolic LBPs (cyLBP-cpC157 and cyLBP-cpC173). For the antigen-antibody reaction, we labeled anti-DYK antibodies on agarose beads with DACM (thiol-reactive blue fluorescent dye), and measured fluorescence after the incubation with DYK-peptides that labeled (FT1) and unlabeled (FT2) with FITC (green fluorescent dye). FT1 reduced fluorescence ratio to ~22%, and the addition of excessive FT2 restored the ratio to ~77%.

Conclusion: We developed a cell-free assay of CFLA-IP₃ using cytosolic LBPs for quantitative measurements & established a principle of CFAA method. These methods can be applied to develop various fluorescence sensors.

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

PM2-21 実験的矯正力負荷時の疼痛に対するレーザー照射の効果 –生理活性と機序の検討–

○土屋 隆子¹, 湯川 未郷², 須田 直人², 安達 一典³

¹明海大 歯 保存治療, ²明海大 歯 矯正, ³明海大 歯 薬理

【目的】矯正治療では、歯の移動に疼痛が伴う。その疼痛に対し低レベルレーザー治療（LLLT）の効果が報告されているが、一貫していない。そこで、矯正力負荷に伴う疼痛を定量評価可能な動物モデルを用いて、歯科で頻用のCO₂または半導体レーザーによる照射が、1) 矯正治療に関連する疼痛を軽減するか、2) 他の生物学的指標（歯の移動量、温度変化）に影響するか、3) その生理作用の機序を解明することを目的として実験を行った。

【試料および方法】イソフルラン全身麻酔下で雄性 Wistar 系ラットの上顎両側門歯と上顎右側第一臼歯間（M1）にコイルスプリングで矯正力（50 g）を負荷した。1日後に、全身麻酔下で、筋電図（顎二腹筋）採取用電極と、電気刺激用電極を上顎両側 M1 部歯肉に留置し、電気刺激に由る開口反射誘発閾値（TH）を測定した。各レーザー（CO₂: 10,600 nm; 半導体: 808 nm）にて右側 M1 領域に照射を行い、TH を再測定した。もう一方の群は、矯正力負荷直後にレーザー照射（30 秒）し、翌日から7日後にかけて TH と歯の移動評価をした。また、温度刺激（45℃, 30 秒）ならびに局所麻酔薬（安息香酸エチル, 2% エピネフリン含有キシロカイン）の投与を行うことで、レーザー照射による鎮痛作用の機序を検討した。

【結果および結論】矯正力負荷は、反対側と比較し右側 TH を1日後に有意に低下させた。矯正力負荷領域にCO₂レーザーを照射すると、右側 TH と右側の歯肉溝内温度が有意に上昇した。M1 歯肉への温度刺激と表面麻酔によってもCO₂レーザー照射と同様の効果が得られた。一方、半導体レーザーではこれらの反応は認められなかった。矯正力負荷直後の各レーザーの照射は翌日の右側 TH を有意に上昇させた。レーザー照射は7日間の歯の移動量に影響しなかった。いずれのレーザーも矯正治療に伴う疼痛を防ぐことが認められ、CO₂レーザーの急性鎮痛効果は表面麻酔様で、その発現には末梢温度上昇が必要であることが明らかになった。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

PM2-21 Therapeutic effects of laser irradiation on tooth movement-related pain -Investigation for biological effect and action mechanism-

○Tsuchiya T¹, Yugawa M², Suda N², Adachi K³

¹Div Endodont Oper Dent, Meikai Univ Sch Dent; ²Div Orthodont, Meikai Univ Sch Dent; ³Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent

This study aimed to (1) determine whether irradiation with a CO₂ or diode laser attenuates orthodontic treatment-related pain using the jaw-opening reflex (JOR) model, (2) elucidate the optimal analgesic irradiation protocol, (3) evaluate the effects of laser irradiation on other biological features [e.g., tooth movement and temperature alterations] and (4) investigate the mechanism underlying the analgesic effect of laser irradiation. Rats were applied continuous orthodontic force by Ni-Ti closed coil spring to the right maxillary first molar under general anesthesia. On the following day, rats were generally anesthetized and pairs of electrodes were inserted bilateral anterior digastric muscles to record EMG activity and the maxillary first molar gingiva to electric stimulation, then the JOR excitability was determined. Animals received irradiation by CO₂ or diode laser, local anesthesia (infiltration or surface) or thermal stimulation before repetitive JOR evaluation. And either laser irradiation was applied immediately after application of orthodontic force in another set of animals, and JOR excitability and tooth movement were evaluated in 1-7 days. In conclusion, both CO₂ and diode lasers can prevent orthodontic treatment-related pain. Furthermore, the involvement of temperature alteration to surface anesthetic effect of CO₂ laser irradiation was suggested.

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

PM2-22 実験的矯正力負荷時の疼痛に対するレーザー照射の効果 –三叉神経節サテライトグリアのGFAP発現との関連–

○湯川 未郷¹, 土屋 隆子², 須田 直人¹, 安達 一典³

¹明海大 歯 矯正, ²明海大 歯 保存治療, ³明海大 歯 薬理

【目的】我々は、矯正力負荷による疼痛を、開口反射誘発電気刺激閾値（TH）の変化によって定量評価可能な動物モデルを開発した。本モデルで矯正力負荷は、THを有意に低下させ、三叉神経節（TG）のサテライトグリア細胞（SGCs）にグリア線維性酸性タンパク質（GFAP）の発現を伴う興奮を惹起した。これまでの研究結果より、CO₂とdiodeレーザーの矯正力負荷直後の照射によりTHが上昇し、矯正力負荷による疼痛が抑制された。そこで本研究では、レーザー照射がSGCsのGFAP発現に与える影響を検討した。【試料および方法】イソフルランによる全身麻酔下で雄性Wistar系ラットの上顎両側門歯と右側第一臼歯（M1）間にコイルスプリングを装着し矯正力を負荷した。矯正力負荷1日後に、全身麻酔下で気管挿管を行い、右側のTHにより疼痛を評価した。右側M1領域へのレーザー照射（CO₂: WL = 10,600 nm, diode: WL = 808 nm）は、矯正力負荷直後に照射し翌日にTH測定をした場合と、矯正力負荷1日後に照射しTH測定をした場合の2種類のパターンを評価した。THの評価後に灌流固定を行い、両側TGsを摘出し、水平凍結断切片を作製後、GFAP免疫蛍光染色を行い観察した。TGのI・II・III枝領域においてGFAP免疫反応細胞に周囲2/3以上を囲まれた神経細胞体数（GFAP-sr-neuron）を計測した。【結果および考察】レーザー非照射群と比較して、矯正力負荷直後のいずれのレーザー照射も、THを有意に上昇させ、TGのI・II枝領域でGFAP-sr-neuron数を有意に減少させた。一方、矯正力負荷1日後の照射では、CO₂レーザーのみTHを有意に上昇させた。この時、TGのGFAP-sr-neuron数に変化はなかった。以上より、いずれのレーザー照射も矯正力負荷による疼痛を抑制することが示唆された。また、CO₂レーザーの照射は、矯正力負荷1日後の三叉神経節が興奮した状態においても鎮痛効果を発現することが示された。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

PM2-22 Effect of laser irradiation on experimental orthodontic force-induced pain -Relationship with satellite glial GFAP expression in trigeminal ganglia-

○Yugawa M¹, Tsuchiya T², Suda N¹, Adachi K³

¹Div Orthodont, Meikai Univ Sch Dent; ²Div Endodont Oper Dent, Meikai Univ Sch Dent; ³Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent

Purpose: Orthodontic force application significantly increased jaw-opening reflex (JOR) excitability and glial fibrillary acidic protein (GFAP) expression in trigeminal ganglionic (TG) satellite glial cells (SGCs) in rats. In this model, JOR excitability was reduced by laser irradiation. Thus, effects of laser irradiation on orthodontic force-induced GFAP expression in TG SGCs was investigated. **Methods:** Rats received orthodontic force to right first molar for one day and JOR-threshold (TH) was measured. Laser irradiation (CO₂ or diode) was applied to orthodontically-treated region, then JOR-TH was measured again (post-irradiation). Other animals received laser irradiation immediately after orthodontic force application (pre-irradiation), then JOR-TH was evaluated next day. After JOR-TH evaluation, TGs were dissected and immunohistochemical examination for GFAP expression was performed. Number of TG neurons, which was surrounded by GFAP-immunoreactive cells over 2/3 of perimeters (GFAP-sr-neuron), was counted. **Results & Conclusions:** Pre-irradiation by either laser significantly decreased JOR excitability and number of GFAP-sr-neuron in V1 and V2 regions of bilateral TGs. Post-irradiation of CO₂ laser increased JOR-TH; however, number of GFAP-sr-neuron in TGs was not altered. These results suggest that CO₂ laser can act as an analgesic during existing of sensory excitation and either laser has anti-inflammatory effect.

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

PM2-23 涙腺における低分子量 G タンパク質 Cdc42 依存性腺房細胞形成機構

○長瀬 春奈, 設楽 彰子, 大野 雄太, 柏保 正典

朝日大 歯 薬理

【背景・目的】 障害を受けた外分泌組織を再生するために、発生・維持機構を解明する研究がなされている。低分子量 G タンパク質で RhoGTPase の一種である cell division cycle 42 (Cdc42) は、上皮細胞極性形成のメディエーターとして働き、細胞骨格の形成や細胞運動を調節している。Cdc42 は様々な上皮組織の形態形成で重要な役割を果たすことが明らかとなっているが、外分泌組織における役割は未だ不明な点が多い。以前、我々の研究グループは、Cdc42 が唾液腺の発生後期と成熟維持期において、腺房細胞の分泌顆粒数や管腔形成を制御することを報告した (Shitara et al., 2019, Shitara et al., 2020)。本研究では、同じく外分泌腺である涙腺の発生過程や形態維持機構における Cdc42 の役割を評価し、外分泌機構の臓器間による差や共通するメカニズムを検討した。

【方法】 発生後期または成熟維持期において *Cdc42* 遺伝子が欠損するように設計された 2 種類のコンディショナルノックアウトマウスを作製し、涙腺重量および形態変化を評価した。

【結果と考察】 発生後期段階および成熟維持期の両方において、Cdc42 が欠損すると、涙腺重量が減少することが明らかとなった。形態学的観察では、腺腔側膜の形態が変化し、管腔構造の変化が認められた。これらのことから、Cdc42 は唾液腺と共通して涙腺の形態形成や形態維持に関与していることが示唆された。今後、外分泌機能への影響やさらなる分子メカニズムを解析する予定である。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM2-23 The mechanism of small G protein, Cdc42-dependent acinar cells formation in lacrimal gland

○Nagase H, Shitara A, Ohno Y, Kashimata M

Dept Pharmacol, Fac Dent, Asahi Univ

The mechanisms of exocrine tissue development/maintenance have been studied to regenerate the tissue after disorder. Cdc42 belongs to the family of Rho GTPases and acts as a mediator of epithelial cell polarization, regulating cytoskeletal organization and cell motility. Cdc42 plays an important role in morphogenesis of various epithelial tissues, whereas its role in the exocrine tissue remains still unclear. Our research group previously reported that Cdc42 regulates secretory granule number and lumen formation in salivary acinar cells during both late development and maintenance of maturation. In this study, we evaluated the role of Cdc42 in the lacrimal gland development and morphological maintenance process, and compared the difference between the exocrine organ. Two types of conditional knockout mice designed to lack the *Cdc42* gene in late development or maintenance of maturation were generated and used to evaluate the weight of lacrimal gland and morphological changes. We found that Cdc42-depletion decreases the weight of the lacrimal gland. Morphological observation revealed that the morphology of the apical membrane and luminal structure was altered in acinar cell. These findings suggest that Cdc42 regulates morphology of the lacrimal gland in common with salivary gland.

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

PM2-24 AQP5 発現量の異なるラット系統を用いたアセチルコリンによって惹起される唾液分泌の解析

○Akter Tahmina, 根津 顕弘, 谷村 明彦

北医療大 歯 薬理

PM2-24 Analysis of acetylcholine-induced salivary secretion in different AQP5 expression rat strains

○Akter T, Nezu A, Tanimura A

Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Purpose: The membrane bound water channels, aquaporin 5 (AQP5) is important for the transcellular fluid secretion in salivary gland cells. The low AQP5 expression rat (AQP5/low) established from Sprague-Dawley (SD) strain (Murdiastuti et al. 2002), has been used to examine the mechanisms of the salivary secretions. In this study, we compared acetylcholine (ACh)-induced salivary secretion and Ca^{2+} response in submandibular gland (SMG) cells in AQP5/low, SD and Wistar/ST rats.

Materials & Methods: The expression of AQP5 in rat SMG was performed by RT-PCR and Western blot analysis using anti-AQP5 antibody. Salivary secretions were examined by the cotton ball method with an intravenous infusion of ACh. ACh-induced change in intracellular Ca^{2+} concentration $[Ca^{2+}]_i$ in dispersed SMG cells was measured by F-2500 fluorescence spectrophotometer using Ca^{2+} indicator, fura-2.

Results & Conclusions: The expression of AQP5 proteins in AQP5/low was much lower than that in SD. We also found that Wistar/ST expressed same level of AQP5 as AQP5/low. Whole saliva secretions in AQP5/low, SD and Wistar/ST were induced with the continuous infusions of ACh (30-1440 nmol/min) in a dose-dependent manner. The maximum salivary secretions with high-dose of ACh (720-1,440 nmol/min) in AQP5/low and Wistar/ST (~2,400 mg/30 min) were ~70% of that in SD (~3,400 mg/30 min). In addition, the salivary secretions with low-dose of ACh (60-90 nmol/min) in AQP5/low was 50% of that in SD. Interestingly, the salivary secretion with the low-dose of ACh in Wistar/ST, which express low level of AQP5, was comparable to that in SD. The ED_{50} values for ACh-induced salivary secretion in AQP5/low, SD and Wistar/ST were 250, 120, and 100 nmol/min, respectively. We observed a concentration-dependent rise in $[Ca^{2+}]_i$ in dispersed SMG cells from AQP5/low, SD, and Wistar/ST with ACh in a range from 0.03-1,000 μ . The EC_{50} values for ACh-induced $[Ca^{2+}]_i$ rise in all three strains were ~1 μ . These findings indicate that AQP5 determines the rate of salivary secretions with strong stimulations, but not with the secretion with low-dose of ACh. The present results suggest the involvement of other factors for regulating the rate of the physiological salivary secretions. To clarify the roles of various molecules, such as ion channels and cotransporters, on mechanism of salivary secretion in three strains, these gene expression in SMG are currently analyzed by RT-PCR.

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

PM2-25 ヒト歯肉線維芽細胞の細胞内カルシウムイオン濃度調節機構に対するフェニトインの作用

○蓑輪 映里佳¹, 倉重 圭史¹, 根津 顕弘², 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、神経細胞の Na⁺ チャネルを阻害し脱分極を抑制するが、服用者の約 50% に歯肉増殖症を引き起こす。これは歯肉線維芽細胞 (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される。さらに PHT は HGF の細胞内 Ca²⁺ 濃度 ([Ca²⁺]_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 [Ca²⁺]_i 上昇のメカニズム、および生理活性物質による HGF の [Ca²⁺]_i 上昇と PHT の作用について解析した。

HGF に 100 μM の PHT を作用させると約 50% の細胞で [Ca²⁺]_i が上昇した。この PHT による [Ca²⁺]_i 上昇反応は細胞外液に Ca²⁺ が存在しない条件でも認められた。PHT による [Ca²⁺]_i 上昇の仕組みを明らかにするために小胞体内 Ca²⁺ ポンプ阻害剤タプシガルギン (ThG) で Ca²⁺ ストアを枯渇させた状態における PHT の作用を調べた。2 μM の ThG による [Ca²⁺]_i 上昇後、100 μM の PHT 添加によって [Ca²⁺]_i がさらに上昇した。この PHT の作用は、細胞外液に Na⁺ が存在しない状態においては認められなかったことから、PHT による [Ca²⁺]_i 上昇は、細胞膜に存在する Na⁺/Ca²⁺ 交換体の抑制によるものであることが示唆された。これらの結果から PHT が様々な刺激による Ca²⁺ 応答を増強する可能性が考えられたため、ATP やヒスタミンによる [Ca²⁺]_i 上昇に対する PHT の作用を調べたところ、100 μM の PHT による [Ca²⁺]_i 上昇の増強を認めた。以上より、PHT が機械的刺激や炎症などに関する様々な生理活性物質による Ca²⁺ 応答を増強する可能性が示された。今後、生理的条件下での HGF の [Ca²⁺]_i 応答とそれに対する PHT の作用を明らかにし、PHT による歯肉増殖発症と [Ca²⁺]_i 動態の関連性を検討する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM2-25 Effect of phenytoin on the regulation of intracellular calcium concentrations in human gingival fibroblasts

○Minowa E¹, Kurashige Y¹, Nezu A², Saitoh M¹, Tanimura A²

¹Div Pediatr Dent, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ²Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Antiepileptic agent phenytoin (PHT) is known to inhibit Na⁺ channel and decreases the excitability of neurons. PHT is also known to induce gingival overgrowth by the increase in proliferation of gingival fibroblasts (HGF) and the unbalance of collagen metabolism. In this study, the effects of PHT on the Ca²⁺ responses in HGF were investigated using live cell imaging. We found that PHT induced [Ca²⁺]_i elevation in the absence of extracellular Ca²⁺. PHT also enhanced Ca²⁺ elevation by Thapsigargin (ThG), an inhibitor of endoplasmic reticulum Ca²⁺ pump. PHT failed to enhance the ThG-induced Ca²⁺ elevation in the absence of Na⁺ in the extracellular fluid. These results suggest that the effect of PHT on the increase in [Ca²⁺]_i was due to the suppression of Na⁺/Ca²⁺ exchanger (NCX). It is assumed that the suppression of the excretion of intracellular Ca²⁺ enhances Ca²⁺ response with various stimuli. Based on this assumption, we examined effects of PHT on Ca²⁺ response with various physiological stimuli, and found that PHT enhanced ATP- and histamine-induced [Ca²⁺]_i elevations. These results raise a possibility that PHT enhances the effects of mechanical and inflammation. Correlation between the enhanced Ca²⁺ responses and the PHT-induced gingival overgrowth needs to be examined.

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

PM2-26 歯原性上皮細胞株と歯髄幹細胞の共培養による自発的 Ca^{2+} 振動の増強

○石田 成美, 村田 佳織, 谷村 明彦

北医療大 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、共培養によって歯髄幹細胞 (DPSC) を歯髄や象牙質に分化させ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、単独、共培養条件下での Ca^{2+} 応答を長時間ライブセルイメージング解析にて観察した。

【方法】 カルシウムセンサータンパク質 (G-GECO, R-GECO) を安定発現する歯原性上皮細胞株および歯髄幹細胞を実験に用いた。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, DPSC の単独培養とその2つの共培養による Ca^{2+} 応答を観察した。

【結果】 SF2 単独培養では、 Ca^{2+} 濃度の間欠的な上昇が認められ、この自発的な Ca^{2+} オシレーションは、P2Y 受容体阻害剤の Suramin ($10\mu\text{M}$) や EGF 受容体阻害剤の Gefitinib ($10\mu\text{M}$) によって抑制された。DPSC 単独培養での自発的 Ca^{2+} オシレーションが観察されたが、これらは Suramin や Gefitinib では抑制されなかった。DPSC の自発的 Ca^{2+} オシレーションは、SF2 との共培養によって頻度が上昇し、その Ca^{2+} 応答の頻度は Gefitinib の添加によって徐々に低下した。SF2 の培養上清で 12 時間処理した DPSC では、 Ca^{2+} 応答に大きな変化は見られなかったが、マイグレーションの促進が観察された。Gefitinib はこの Ca^{2+} オシレーションの頻度を低下させ、マイグレーションを抑制した。

【考察】 DPSC 単独培養時の自発的な Ca^{2+} オシレーションは Gefitinib 抑制されなかったが、SF2 の培養上清や共培養によって Gefitinib 感受性に変化した。この結果から、SF2 から放出される何らかの因子が、DPSC の遺伝子発現を介して Ca^{2+} オシレーションを質的に変化させる可能性が示された。その詳細は未だ不明なので今後検討していく必要がある。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM2-26 Enhancement of spontaneous Ca^{2+} oscillation by co-culture of odontogenic epithelial cell line and dental pulp stem cells

○Ishida N, Murata K, Tanimura A

Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

SF2 cells are a cell line derived from odontogenic epithelial cells, and have been reported to induced the differentiation of dental pulp stem cells (DPSC) into dental pulp and dentin by the co-culture. In order to clarify the role of the Ca^{2+} response in this cell-cell interaction, we observed the Ca^{2+} response under single and co-culture conditions by long-term live cell imaging analysis. In the present study, we developed SF2 cell and DPSC that stably express calcium sensor proteins (G-GECO, R-GECO), and examined the Ca^{2+} responses of these cells by long-term live cell imaging using a fluorescence microscope (Nikon Ti2E). Spontaneous Ca^{2+} oscillations were observed in SF2 and DPSC in the cell culture conditions. We found that the frequency of Ca^{2+} oscillations in DPSCs was increased in the co-culture with SF2. Gefitinib, EGF receptor inhibitor, decreased the frequency of Ca^{2+} oscillations in DPSC in the co-culture conditions. In addition, the migration of DPSC was promoted by the treatment with SF2 culture supernatant for 12 hours. Gefitinib reduced the frequency of this Ca^{2+} oscillation and suppressed migration. These results suggest that some factor released from SF2 induced qualitative change Ca^{2+} oscillations through changes in gene expression.

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

PM2-27 ラットグリア細胞腫瘍由来 C6 細胞の ATP 刺激による細胞体と突起部のカルシウム応答の特性

○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

中枢神経の信号処理に関する細胞として、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では、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。また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し、離れた細胞へも情報伝達を行うことができることが知られている。グリオトランスミッターの1つである ATP は、細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) 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、ラットグリア細胞腫瘍由来の細胞株 (C6 細胞) にアデノウイルスベクターを用いてカルシウムインジケーター (GCaMP6f あるいは YC-nano50) を発現させ、細胞突起部の $[Ca^{2+}]_i$ 動態に着目してライブセルイメージング解析を行った。

C6 細胞に ATP を 3 μ M 以上作用させると、細胞質全体で一過性の $[Ca^{2+}]_i$ 上昇と、それに続く持続相が観察された。この上昇は、P2Y 受容体阻害薬である Suramin で抑制された。一方、1 μ M 以下の弱い ATP 刺激では細胞質全体での $[Ca^{2+}]_i$ 上昇は少なく、突起部に限局した $[Ca^{2+}]_i$ 上昇が数分間隔で起こる局所的 Ca^{2+} オシレーションが観察された。また caged ATP への光照射により局所的に ATP を発生させると、光照射部位に関わらず突起部で $[Ca^{2+}]_i$ 上昇が観察された。この突起部での特異的な $[Ca^{2+}]_i$ 上昇の発生機構として、突起部における P2Y 受容体あるいは IP_3 受容体の局在の可能性が考えられた。膜透過性 caged IP_3 を取り込ませた細胞の細胞体の光刺激によって突起部での Ca^{2+} 応答が観察されたことから、C6 細胞の突起部に IP_3 感受性が高い Ca^{2+} ストアが局在することが示唆された。この細胞突起に局在する IP_3 高感受性 Ca^{2+} ストアが、グリア細胞のシグナル伝搬で重要な役割を果たしていると考えられる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM2-27 ATP-induced Ca^{2+} elevations in rat glioma C6 cells at cell body and processes

○Goh K¹, Nezu A², Terumitsu M¹, Tanimura A²

¹Div Dent Anesthesiol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ²Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Glial cells are known to modulate neural functions through the release of gliotransmitters including glutamate, d-serine, glycine, GABA and ATP. In particular, ATP has been suggested to be involved in the communication among glial cells through an increase in intracellular Ca^{2+} concentration ($[Ca^{2+}]_i$). In this study, we examined Ca^{2+} responses in rat glioma C6 cells using live cell imaging with genetically encoded Ca^{2+} indicators, GCaMP6s and YC-nano50.

Stimulations of ATP at concentrations above 3 μ M induced rapid increases in $[Ca^{2+}]_i$ in the entire cell, and subsequent sustained Ca^{2+} responses. ATP caused a transient increase in $[Ca^{2+}]_i$ without the sustained Ca^{2+} response in the absence of extracellular Ca^{2+} , indicating the Ca^{2+} release from intracellular stores. These ATP-induced Ca^{2+} responses in C6 cells were inhibited by the P2Y receptor antagonist Suramin. We also found that low concentrations of ATP (<1 μ M) induced localized elevations of $[Ca^{2+}]_i$ at cell processes. Similar Ca^{2+} responses were induced by focal photolysis of caged ATP and membrane-permeable caged IP_3 at the site near the cell processes and cell body. These results suggest that the distribution of IP_3 -highly sensitive Ca^{2+} stores at the cell processes contribute to the Ca^{2+} responses with low concentrations of ATP stimulations.

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

PM2-28 テロメア構造結合性新規化合物のマウスにおける抗癌効果の検討

○福田 晃^{1,2}, 東 泉¹, 竹内 弘¹

¹九歯大 口腔応用薬理, ²九歯大 顎顔面外科

【目的】我々はテロメア DNA 構造に高い結合特異性をもつ環状アントラキノン (cyclic anthraquinone : cAQ) が, 培養細胞レベルで正常細胞よりも癌細胞に対して強い増殖抑制効果を示すことを確認してきた. 今回 cAQ の抗腫瘍効果および安全性について個体レベルで検討した.

【方法】5 週齢 KSN/Slc ノードマウスの背部皮下にヒト口腔癌由来細胞株 SAS 細胞を移植した担癌モデルにおいて, 0.003 mmol/kg の cAQ, 0.03 mmol/kg の CDDP または生理食塩水を隔日で計 5 回腹腔内投与し, 抗腫瘍効果を検討した. 非担癌マウスでも担癌モデルと同様の薬物投与を行い, 毒性について生化学的及び病理組織学的に解析した. 本研究は, 九州歯科大学動物実験委員会の承認を得て実施した (承認番号 17-004).

【結果】cAQ および CDDP 投与群において, いずれも有意な抗腫瘍効果を認めた. 一方, CDDP 投与群では体重が減少し, 血清生化学検査から腎臓および肝臓の機能異常が示唆されたが, cAQ 投与群では対照群との相違を認めなかった. また CDDP 投与群では腎臓, 肝臓および精巣に既知の異常所見を認めたが, cAQ 投与群による組織学的変化を認めなかった.

【結論】cAQ はマウス個体レベルでも抗腫瘍効果を示し, かつ CDDP と比較して正常組織への毒性が低く, 安全性の高い新たな抗腫瘍薬開発に貢献することが期待される.

【会員外共同研究者】Zou Tingting, 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】著者は利益相反がないことを宣言する.

PM2-28 Antitumor effect of novel ligands for the telomere structure in mice

○Fukuda H^{1,2}, Higashi S¹, Takeuchi H¹

¹Div Appl Pharmacol, Kyushu Dent Univ; ²Div Oral Maxillofac Surg, Kyushu Dent Univ

Objectives: A novel ligand with high specificity for telomeric DNA structure, cyclic anthraquinone (cAQ), exhibits a stronger growth inhibitory effect on tumor-derived cells than on normal cells. Here we examined the antitumor effect and toxicity of cAQ using living mice.

Methods: Saline, cAQ (0.003 mmol/kg) or CDDP (0.03 mmol/kg) was intraperitoneally administered into the 5-week-old KSN/Slc nude mice with or without transplantation of SAS cells every other day for 5 times, followed by examining the antitumor effect and toxicity of the drugs on the tissues biochemically and histopathologically.

Results: A significant antitumor effect was observed in both cAQ- and CDDP-administered groups. On the other hand, while decreasing body weight and biochemical data of the serum suggested abnormal renal and hepatic functions in the CDDP-administered group, those parameters of the cAQ-administered mice were same as the control mice. Furthermore, abnormal findings already reported were observed in the kidney, liver and testis of the CDDP-administered group, but no histopathological changes were observed in the cAQ-administered group.

Conclusion: cAQ showed antitumor effect with lower toxicity than CDDP in mice, suggesting that cAQ would contribute to developing a highly safe antitumor drug.

Non-member collaborators: Zou Tingting, Shinobu Sato, Shigenori Takenaka (Kyushu Institute of Technology)

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

PM2-29 抗 RANKL 抗体とゾレドロネートがマウス実験的根尖性歯周炎の成立に及ぼす影響

○池田 めぐみ^{1,2,3}, 瀧澤 秀臣^{2,3,4}, 唐川 亜希子^{2,3}, 坂井 信裕^{2,3}, 茶谷 昌宏^{2,3}, 畔津 佑季^{2,3}, 鈴木 規元¹, 高見 正道^{2,3}

¹昭大 歯 歯科保存 歯内治療, ²昭大 歯 歯科薬理, ³昭大 薬理科学研究セ, ⁴昭大 歯 矯正

【目的】根尖性歯周炎は根尖周囲のエックス線透過像を主徴とする炎症性疾患であり、その成立は破骨細胞による根尖周囲の骨吸収に依存する。そこで本研究では、実験的根尖性歯周炎モデルマウスを用いて、骨吸収抑制作用をもつ抗 RANKL 抗体およびゾレドロネートが根尖病変の形成に及ぼす影響を解析した。【方法】6 週齢の C57BL6/J 雄性マウスを、(1) 抗 RANKL 抗体投与群、(2) ゾレドロネート投与群および (3) 対照群 (生理食塩水投与) に群分けした。麻酔下において下顎左右第一臼歯を #1/4 ラウンドバーを用いて髓腔開拓し、さらに #10 K ファイルで根管口を明示したのち、口腔内に開放した。抗 RANKL 抗体 (0.03 ~ 3.0 mg/kg)、ゾレドロネート (0.03 ~ 3.0 mg/kg) または生理食塩水 (10 mL/kg) を、術後 0, 7, 14 日目に腹腔内投与し、21 日目に屠殺した。その間、根尖病変の形成は μ CT を用いて観察した。【結果】各実験群間で、体重および生存率に有意差はなかった。対照群において、7 日目は根尖にほとんど病変が認められなかったが、14 日目にわずかな病変形成が確認され、21 日目には根尖部を囲む類円形の病変が認められた。抗 RANKL 抗体投与群とゾレドロネート投与群では、いずれも病変は形成されていたものの、対照群と比較して病変のサイズは投与量に依存して小さくなった。また、抗 RANKL 抗体投与群 (3.0 mg/kg) よりもゾレドロネート投与群 (3.0 mg/kg) の病変形成が強く抑制されていた。【考察】根尖性歯周炎は臨床的に難治化しやすい疾患である。本研究では、マウスを用いてその成立過程を時系列的に解析することにより、抗 RANKL 抗体およびゾレドロネートが根尖病変の形成を抑制することを明らかにした。今後、局所的な骨吸収抑制方法を確立することができれば、根尖性歯周炎の新たな治療方法の開発につながる可能性がある。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM2-29 Effects of anti-RANKL antibody and zoledronate on apical periodontitis development in model mice

○Ikeda M^{1,2,3}, Takizawa H^{2,3,4}, Karakawa A^{2,3}, Sakai N^{2,3}, Chatani M^{2,3}, Azetsu Y^{2,3}, Suzuki N¹, Takami M^{2,3}

¹Div Endodont, Dept Conserv Dent, Sch Dent, Showa Univ; ²Dept Pharmacol, Sch Dent, Showa Univ;

³Pharmacol Res Center, Showa Univ; ⁴Dept Orthod, Sch Dent, Showa Univ

Purpose: Apical periodontitis, an inflammatory disease characterized by periapical radiolucency, develops as a result of osteoclastic bone resorption. We analyzed the effects of an anti-mouse-RANKL monoclonal antibody and zoledronate on development of periapical lesions in experimental apical periodontitis model mice. **Materials & Methods:** Six-week-old C57BL6/J mice were divided into the anti-RANKL antibody, zoledronate, and saline (control) groups. In each mouse, dental pulp chambers of the lower first molars were exposed and left open to the oral environment, then the anti-RANKL antibody, zoledronate, or saline was intraperitoneally injected at 0, 7, and 14 days after pulp exposure, with euthanasia on day 21. **Results:** There were no significant differences for weight or survival rate between the treated and control groups, while bone resorption in apical regions was sequentially increased in all mice. As compared to the control group, periapical lesion size in the treated groups was smaller, in a dose-dependent manner. Mice treated with zoledronic acid showed stronger suppression of periapical lesion extension as compared to those that received the anti-RANKL antibody. **Conclusion:** Both anti-RANKL antibody and zoledronate administration decreased periapical lesion development in experimental apical periodontitis model mice.

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

PM2-30 星状神経節ブロックにおける局所麻酔薬による組織酸素化の比較

○安田 美智子¹, 黒田 英孝¹, 高橋 聡子², 高橋 俊介²

¹神歯大 院歯 全身管理医歯, ²神歯大 院歯 口腔科学

星状神経節ブロック (SGB) は, 口腔顎顔面領域における三叉神経ニューロパチーなどの疼痛性疾患や麻痺性疾患の治療に用いられ, その有効性は交感神経遮断による血管拡張に伴う組織血流量の増加で説明される. SGB により組織血流量が増加するのであれば, 組織酸素化が変化する可能性がある. 本研究は, SGB による両側オトガイ部の組織血流量と組織酸素化の変化とその関係性を, SGB に使用する局所麻酔薬ごとに, 近赤外分光分析法を用いてクロスオーバー試験で比較した. SGB は盲目的傍気管アプローチ法で一人の術者が実施し, 全症例でホルネル徴候を認めた. 1%リドカイン塩酸塩 6 mL を用いた (L 群) SGB 側では正規化組織ヘモグロビン指標 (nTHI) の増加に続き組織酸素化指標 (TOI), 酸素化ヘモグロビン変化量 (ΔO_2Hb), 総ヘモグロビン変化量 (ΔcHb) が経時的に増加したが, SGB 施行 15 分から減少傾向を示した. また, L 群 SGB 側の脱酸素化ヘモグロビン変化量 (ΔHHb) は変化しなかった. 1%メピバカイン塩酸塩 6 mL を使用した (M 群) SGB 側でも, nTHI に続き TOI, ΔO_2Hb , ΔcHb が増加したが, ΔHHb も経時的に増加した. 非 SGB 側では, L 群 SGB 側の増加に続き, TOI, nTHI, ΔO_2Hb , ΔcHb が経時的に増加したが, M 群は変化しなかった. SGB による組織酸素化は, 組織血流量の増加に伴い増加した. リドカイン塩酸塩は非 SGB 側の組織酸素化も増加させ, メピバカイン塩酸塩による SGB は静脈性鬱血を起こす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.

PM2-30 Comparison of tissue oxygenation in local anesthetics on stellate ganglion block

○Yasuda M¹, Kuroda H¹, Wada-Takahashi S², Takahashi SS²

¹Dept Crit Care Med Dent, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ; ²Dept Oral Sci, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ

Stellate ganglion block (SGB) is the therapy for trigeminal sensory neuropathy, and its availability is explained that increase in tissue blood flow caused by vasodilation due to sympathetic nerve blockage. In this study, we compared the changes in mentum tissue blood flow and tissue oxygenation between SGB by 1% lidocaine hydrochloride and 1% mepivacaine hydrochloride by using near-infrared spectroscopy with cross-over design trial. Our results suggest that SGB using by each local anesthetic solution increased in tissue oxygenation sequentially following by the increase in tissue blood flow in the affected-side. In the SGB using by lidocaine hydrochloride, the slightly same response was observed in the healthy-side although that was slower dynamics than that in affected-side. Mepivacaine hydrochloride may cause venous congestion on the affected-side.

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

PM2-31 局所麻酔薬によるムスカリン受容体を介する Ca^{2+} 応答の抑制作用とその作用機序

○島谷 真梨¹, 根津 顕弘², 谷村 明彦²

¹北医療大 歯 組織再建口外, ²北医療大 歯 薬理

【目的】局所麻酔薬は、電位依存性 Na^+ チャンネルの抑制によって活動電位の発生を抑制することが知られている。本研究は、局所麻酔薬やその誘導体である QX314 (QX) が、ヒト唾液腺細胞株 HSY においてカルバコール (CCh) 刺激による細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) の上昇を抑制することを見出し、そのしくみを解析したので報告する。

【方法】Hanks-HEPES 液に浮遊させた HSY 細胞に fura-2 を取り込ませ、蛍光光度計 (Hitachi F2500) を用いて $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化を測定した。

【結果と考察】リドカイン (150 μM : 約 0.0035%) は、CCh (50 μM) による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇を抑制した。同様の Ca^{2+} 応答の抑制は、プロピトカイン (50 μM)、メピバカイン (50 μM)、プロカイン (10 μM)、および細胞膜を通過しないイオン型局所麻酔薬誘導体である QX (50 μM) でも認められた。この CCh による Ca^{2+} 応答の抑制におけるリドカイン、プロカイン、QX の EC_{50} は各々 123.9 μM , 20.4 μM , 36.4 μM であった。QX による Ca^{2+} 応答の抑制は、細胞外 Ca^{2+} 非存在下でも観察されたことから、QX が細胞内ストアからの Ca^{2+} 放出を抑制したことが示唆された。一方、QX は SERCA ポンプ阻害剤のタプシガーギンや PLC 活性化剤の m3M3 による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇を抑制しなかったことから、 Ca^{2+} ストアの感受性、ストアにおける Ca^{2+} リークや Ca^{2+} の取込み、細胞外からの Ca^{2+} の流入や排出には影響しないことが示された。これらの結果および QX が細胞膜を通過しないと考えられることから、QX による Ca^{2+} 応答の抑制は、ムスカリン受容体の抑制によるものと考えられた。さらに ATP 刺激による Ca^{2+} 応答に対する QX の抑制作用は非常に弱かった。このことから、QX や局所麻酔薬は比較的特異的にムスカリン受容体を抑制することが明らかになった。

【結論】局所麻酔薬や QX がムスカリン受容体の抑制によって CCh による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇を抑制することが示された。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

PM2-31 Inhibitory effect of local anesthetics on the muscarinic receptors-mediated Ca^{2+} release from intracellular stores

○Shimatani M¹, Nezu A², Tanimura A²

¹Div Reconstructive Surg Oral Maxillofac Reg, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ²Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Local anesthetics are known to inhibit the voltage-dependent sodium channels. The present study reports an inhibitory effect of the local anesthetics on the carbachol (CCh)-induced Ca^{2+} responses in HSY, human salivary ductal cell line. Lidocaine (150 μM \approx 0.0035%) suppressed the CCh (50 μM)-induced increase in the intracellular Ca^{2+} concentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$). Similar inhibitory effects on the CCh-induced Ca^{2+} responses were observed with propitocaine, mepivacaine, procaine, and QX314 (QX), a cell-impermeable analogue of lidocaine. EC_{50} values of lidocaine, procaine, and QX on reducing CCh-induced Ca^{2+} responses were 123.9 μM , 20.4 μM , 36.4 μM , respectively. QX also reduced CCh-induced Ca^{2+} responses in the absence of extracellular Ca^{2+} , indicating the reduction of Ca^{2+} release from intracellular stores. On the other hand, QX had no effect on the rise in $[\text{Ca}^{2+}]_i$ by SERCA inhibitor, thapsigargin. Furthermore, QX showed a very weak inhibitory effect on ATP-induced Ca^{2+} response. Together with these results, QX and local anesthetics have a relatively specific inhibitory effect on muscarinic receptors.

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

PM3-01 胎生期マウスの外側口蓋突起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 口腔顎顔面外科 2, ³明海大 歯 口腔顎顔面外科 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」という現象に着目し、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。そして、生きている状態の細胞を観察するために CO2 ガスの供給およびディッシュヒーターによる加温を行い、外側口蓋突起に存在する個々の細胞の形態・動態を観察するために標識色素を用いて核を可視化し共焦点顕微鏡によるライブ観察を行った。加えて、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。観察条件の探索の結果、組織の深部に存在する細胞の可視化、動態の観察を行うことが出来た。また、観察開始から 120 分間における細胞の動態を解析したところ、組織中のどの部分に存在する細胞もおおよそ組織の挙上がおこる方向へ移動をしていることが明らかとなった。今回の方法は標識試薬を用いて簡便に組織内の細胞を可視化し観察することが可能であり、口蓋突起以外の口腔組織でも利用することが出来ると考えられる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM3-01 Establishment of live imaging method of palatal shelves during secondary palate development in mouse

○Nagasaka A¹, Sakiyama K¹, Bando Y¹, Ogasawara Y^{1,2}, Onozawa G^{1,3}, Amano O¹

¹Div Anat, Meikai Univ Sch Dent; ²Div Oral Maxillofac Surg 2, Meikai Univ Sch Dent; ³Div Oral Maxillofac Surg 1, 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 nuclear staining dye. 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 author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

PM3-03 矯正学的歯の移動時において Gli1 陽性歯根膜細胞は骨芽細胞に分化する

○関 有里^{1,2}, 建部 廣明¹, 溝口 利英³, 入江 一元⁴, 細矢 明宏¹

¹北医療大 歯 組織, ²北医療大 歯 矯正, ³東歯大 口腔科学研セ, ⁴北医療大 歯 解剖

【目的】 矯正歯科治療で歯を移動させると、牽引側の歯槽骨において骨形成が生じるが、骨芽細胞の分化機構は未だ不明である。Gli1 はヘッジホッグシグナル伝達における重要な転写因子であり、歯胚形成時の幹細胞で発現が認められることが明らかとされている。そこで本研究ではフェイトマッピング解析法を用い、歯の移動時の歯根膜における Gli1 陽性細胞の分化能を検討した。

【材料と方法】 生後 8 週齢の Gli1-CreERT2/ROSA26-loxP-stop-loxP-tdTomato (iGli1/Tomato) マウスにタモキシフェンを投与し、上顎切歯と上顎右側第一臼歯間にクローズドコイルスプリングを装着した。上顎第一臼歯遠心頬側根を観察領域とし、Gli1/Tomato 蛍光ならびにカテプシン K, Osterix, PCNA 陽性細胞の局在を免疫組織化学的に検討した。また、上顎左側第一臼歯を同様に処理した試料を対照群とした。

【結果および考察】 対照群の歯根膜において、ごく少数の Gli1/Tomato 陽性細胞が血管周囲で散在性に認められた。カテプシン K 陽性の破骨細胞は第一臼歯遠心側の歯槽骨表面にみられた。矯正移動後、右側第一臼歯は近心へ移動し、近心側の歯槽骨表面にカテプシン K 陽性細胞が出現した。一方、遠心側の歯槽骨では Osterix 陽性の骨芽細胞が骨表面に配列していた。また、細胞増殖を示す PCNA 陽性の細胞が遠心側の歯根膜で多数認められた。Gli1/Tomato 陽性細胞は遠心側の歯根膜で多く認められた。この Gli1/Tomato 陽性細胞の一部は、Osterix の免疫反応を示した。

【結論】 以上の結果より、Gli1 陽性細胞は矯正学的歯の移動時に牽引側の歯根膜で増殖することが示された。また、Gli1 陽性細胞の子孫細胞は骨芽細胞へ分化することが明らかとなった。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM3-03 Osteoblast differentiation of Gli1-positive cells in periodontal ligament during orthodontic tooth movement

○Seki Y^{1,2}, Takebe H¹, Mizoguchi T³, Irie K⁴, Hosoya A¹

¹Div Histol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ²Div Orthod Dentofac Orthop, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ³Oral Health Sci Center, Tokyo Dent Coll; ⁴Div Anat, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Although orthodontic tooth movement induces bone formation at the tension side of alveolar bone, the mechanism of osteoblast differentiation is not fully understood. Gli1 is an essential transcription factor of hedgehog signaling and functions in undifferentiated cells during embryogenesis. In this study, we investigated the differentiation of Gli1-positive cells in periodontal ligament during tooth movement using a lineage tracing analysis. In 8-week-old Gli1-CreERT2/ROSA26-loxP-stop-loxP-tdTomato (iGli1/Tomato) mice just after the final administration of Tamoxifen, Gli1/Tomato-positive cells were observed near the blood vessels in the periodontal ligament. Cathepsin K-positive osteoclasts were found at the distal side of the alveolar bone of the first molar. Next, to move the first molar of iGli1/Tomato mice medially, nickel-titanium closed-coil springs were attached between the maxillary first molar and incisors. After 8 days, the first molar has been moved medially, and a large number of osteoblasts aligned on the distal surface of alveolar bone. Numerous Gli1/Tomato-positive cells were observed at the distal side of the periodontal ligament. Some of these cells were immunopositive for Osterix, a marker of osteoblasts. Therefore, these results suggest that Gli1-positive cells in the periodontal ligament proliferate and differentiate into osteoblasts during orthodontic tooth movement.

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

PM3-05 マウス歯の再植後の歯髄治癒過程におけるオステオポンチンの役割

○Suzuki Kiyoko¹, Makishi Sanako¹, Nakatomi Mitsushiro², Saito Kotaro¹,
Ida-Yonemochi Hiroko¹, Ohshima Hayato¹

¹新潟大 院医歯 硬組織形態, ²九歯大 解剖

PM3-05 Role of osteopontin in the process of pulpal healing following tooth replantation in mice

○Suzuki K¹, Makishi S¹, Nakatomi M², Saito K¹, Ida-Yonemochi H¹, Ohshima H¹

¹Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ²Div Anat, Kyushu Dent Univ

Purpose: Our previous study clarified that osteopontin (OPN) is essential for the type I collagen secretion by newly differentiated odontoblast-like cells to form reparative dentin after cavity preparation. In contrast, the role of OPN remains to be elucidated in the case of tooth replantation that is a severe injury model where blood supply and innervation are disturbed temporarily to induce the death of most odontoblasts. This study aimed to investigate the role of OPN in the process of reparative dentin formation with special reference to reinnervation and revascularization after tooth replantation in *Opn* knockout (KO) and wild-type (WT) mice.

Materials & Methods: Not-erupted and erupted maxillary first molars of 2 and 3 week-old *Opn* KO and WT mice, respectively, were replanted, followed by the fixation at 3, 5, 7 and 14 days after operation. Samples were analyzed by μ CT, and subsequently decalcified tissue sections were processed for H&E staining, immunohistochemistry for Ki67 (cell proliferation), Nestin (odontoblast differentiation), PGP 9.5 (nerve fibers), and CD31 (blood vessels) and *in situ hybridization* for *type I collagen* and *Opn*.

Results & Conclusion: Intense inflammatory reaction occurred to disturb the pulpal healing in the replanted teeth of 3-week-old *Opn* KO mice. In contrast, dental pulp achieved healing in the 2-week-old *Opn* KO mice, although root development was delayed compared with WT mice. The quantitative analysis by μ CT showed significant differences at days 3-5. In both groups, we observed Nestin-positive newly differentiated odontoblast-like cells beneath the reparative dentin. In *Opn* KO mice, Ki67-positive cells increased in number within dental pulp at days 3 (mainly in root pulp) and 5 (coronal pulp). *In situ hybridization* for *type I collagen* displayed different distribution within dental pulp between WT and *Opn* KO mice mainly at day 3. In conclusion, the stage of root development and the gingival covering affect the pulpal healing of replanted teeth, and OPN play an important role in proper inflammation and revascularization.

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

PM3-06 転写共役因子 Smad4 はマウス切歯において上皮細胞の運命を制御する

○町谷 亜位子^{1,2,3}, 須田 直人², 片桐 岳信¹

¹埼玉医大 医 ゲノム基礎医学, ²明海大 歯 矯正, ³明海大 歯 オーラルリハビリ

歯は、発生過程において上皮間葉相互作用によって形成される器官の一つである。齧歯類の切歯は、胎生期のみならず、出生後も持続的に形成されるため、歯の形成過程やその調節機構を解析するための優れた実験モデルとなる。Transforming growth factor- β (TGF- β) ファミリーは、歯の形成に重要な成長因子で、転写共役因子 Smad4 は、TGF- β ファミリーのリン酸化 Smad 依存的な細胞内シグナルに必須な因子である。本研究では、歯の発生における TGF- β ファミリーの役割を明らかにするため、タモキシフェン投与依存的に Smad4 を欠失できる新しいコンディショナルノックアウト (cKO) マウスを樹立し、離乳後にタモキシフェンを投与して切歯の表現形を解析した。Smad4 cKO マウスは、タモキシフェン投与後約 1 ヶ月で貧血を呈して死亡した。Smad4 が細胞内で複合体を形成するリン酸化 Smad1/5/9 やリン酸化 Smad2/3 は、コントロールマウスと同様に Smad4 cKO マウスの切歯にも認められた。一方、Smad4 cKO マウスの切歯では、エナメル芽細胞を含む上皮系細胞において、形態異常や低形成が認められた。さらに、Smad4 cKO マウスでは、齧歯類のエナメル質石灰化に重要なアルカリホスファターゼの発現や鉄沈着が低下していた。これらの結果より、転写共役因子 Smad4 依存的な TGF- β ファミリーの細胞内シグナルが、マウス切歯における上皮細胞の正常な分化と、その機能発現に重要な役割を果たす可能性が示された。

【会員外共同研究者】塚本翔, 大手聡, 倉谷麻衣 (埼玉医科大学医学部ゲノム基礎医学)

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

PM3-06 Transcriptional co-activator Smad4 regulates the fate of dental epithelial cells in adult mouse incisors

○Machiya A^{1,2,3}, Suda N², Katagiri T¹

¹Div Biomed Sci, Res Center Genom Med, Saitama Med Univ; ²Div Orthodont, Meikai Univ Sch Dent;

³Div Oral Rehabil, Meikai Univ Sch Dent

During development, teeth are formed by epithelial and mesenchymal cells which originate from stem cells under the control of various signaling molecules. Rodent incisors are suitable models for analysis of tooth formation as they are continuously formed even in adulthood. Members of the transforming growth factor- β (TGF- β) family of cytokines are important for tooth development, although the molecular mechanisms of their regulation remain unclear. Smad4 is an essential co-activator for the transcriptional activity of all phosphorylated Smad proteins in the TGF- β family. The current study aimed to establish novel Smad4 conditional knockout (cKO) mice, in which Smad4 was deleted in response to tamoxifen treatment, and to examine the phenotypes of adult mouse incisors. All Smad4 cKO mice died of severe anemia within one month after treatment. The levels of phosphorylated Smad1/5/9 and phosphorylated Smad2/3 were comparable in Smad4 cKO and control mice incisors. Disorganized and hypoplastic epithelial cells were observed in Smad4 cKO mice. Moreover, alkaline phosphatase expression and the incorporation of iron, which are involved in enamel mineralization, were reduced in dental epithelial cells in Smad4 cKO mice. These findings suggest that Smad4-dependent signaling is required for normal differentiation and functioning of dental epithelial cells in adult mouse incisors.

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

PM3-07 シングルセル RNA シーケンスによる歯胚遺伝子発現プロファイル○千葉 雄太¹, 王 欣¹, 吉岡 直哉¹, 福本 敏²¹東北大 院歯 小児歯, ²九大 院歯 小児口腔

歯の発生において、歯原性上皮幹細胞はエナメル芽細胞とその前駆細胞である内エナメル上皮細胞、中間層細胞、星状網細胞、外エナメル上皮細胞といった複数の細胞系列に分化しエナメル質形成を行う。これまでに我々は、歯の発生に関わる新規の分子機序の解明を目的に、歯胚特異的な遺伝子の同定と機能解析を進めてきた。しかしながら、歯胚を構成する細胞は、その細胞種類別に単離することが困難であることから、エナメル芽細胞を除く歯原性上皮細胞種の発現遺伝子は未だに十分に理解されていない。また、エナメル芽細胞の分化段階は、増殖期、分泌期、成熟期の3つの段階に大別されるが、成熟期エナメル芽細胞の発現遺伝子に関しては、他の分化段階に比較し解析が進んでいない。本研究では、シングルセル RNA シーケンス法を用いて、歯胚を構成する全ての細胞に関して発現遺伝子を解析することで、歯の発生に関わる新規の細胞マーカー遺伝子の同定、ならびに歯原性上皮細胞の細胞特性の解明を目的とする。実験方法として、上皮特異的蛍光レポーターマウス Keratin14-RFP マウスより、生後7日齢切歯、胎生14日齢臼歯、胎生16日齢臼歯、生後1日齢臼歯、生後12日齢臼歯を摘出し、Droplet-seq法を用いて、各分化段階別の遺伝子発現ライブラリを構築した。その結果、合計30,363細胞のシーケンスに成功し、データ上での既知の細胞種マーカー遺伝子発現解析より、歯原性上皮細胞種毎の細胞集団を同定した。加えて、細胞集団別の高発現遺伝子の中より、新規の細胞種特異的マーカー遺伝子として複数の遺伝子を同定し、マウス歯胚切片を用いた免疫染色にてその局在を確認した。本研究により、今までブラックボックスであった、歯原性上皮細胞の細胞種類・分化段階毎の発現遺伝子が明らかとなり、今後の歯の発生研究を進展させるマイルストーン研究となることが期待される。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。**PM3-07 Transcriptome profiling of tooth germ using single-cell RNA-sequencing**○Chiba Y¹, Wang X¹, Yoshioka N¹, Fukumoto S²¹Div Pediatr Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ²Sect Pediatr Dent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

The dental epithelial stem cells give rise to all dental epithelial cell types; ameloblast and its progenitor inner enamel epithelium, stratum intermedium, stellate reticulum, and outer enamel epithelium. The coordination of these cell types is essential for enamel formation. We have identified several genes that play important roles in tooth development and analyzed their role. However, the gene expression profile of outer enamel epithelium and stellate reticulum is not completely understood. Furthermore, the gene expression of maturation-stage of ameloblast has not been characterized. In this study, we performed single-cell RNA-sequence analyses using tooth germ to reveal the gene expression profile of dental epithelial cells. We dissected the tooth germs from epithelium-specific fluorescence reporter Keratin14-RFP mice at the age of embryonic day (E) 14, E16, postnatal day (P) 1, P7, and P12. We obtained the single-cell RNA-sequence (scRNA-seq) dataset from 30,363 cells as total. Further, we identified the clusters of dental epithelial cell types from differential expression analysis with known marker genes. In addition, we identified several novel marker genes for dental epithelial cell types from scRNA-seq datasets and performed immunofluorescence of these genes using the section of mouse tooth germ.

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

PM3-08 歯髄幹細胞由来無血清培養上清を用いた変形性顎関節症の治療法開発

○加納 史也, 山本 朗仁

徳大 院医歯薬 組織再生制御

【背景】変形性顎関節症 (TMJOA) は、進行性の軟骨変性と異常な骨リモデリング、慢性疼痛を特徴とする変性疾患である。運動機能障害や激しい疼痛によって患者の QOL は著しく低下する。現在は疼痛や炎症制御による対処療法が主流であり、関節軟骨や骨組織の再生を促す新しい治療法の開発が望まれている。近年、モデル動物への幹細胞移植による再生治療効果が報告されている。しかしながら、移植細胞の生着率の低さや拒絶反応、倫理問題などから臨床応用は困難である。今回われわれは、ヒト歯髄幹細胞無血清培養上清 (SHED-CM) に着目した。これまでに我々は SHED-CM に含まれるパラクライン因子が抗炎症、組織再生能力を有することを報告してきた。

【目的】強制大開口によるマウス TMJOA モデルに SHED-CM を静脈投与し、治療有用性の評価と治癒メカニズムの解明を目指した。

【結果】SHED-CM 投与は、側頭筋の炎症を顕著に抑制し、破壊された下顎頭の表面の性状を改善した。また SHED-CM 投与群では、IL-1b, iNOS および MMP-13 等、病態増悪因子を発現する軟骨細胞が減少した。さらに、関節表層の未分化軟骨細胞の細胞増殖マーカー PCNA の発現を誘導した。SHED-CM 投与群の下顎頭軟骨部の TUNEL 陽性細胞は DMEM 投与群と比較し有意に減少し、軟骨基質発現面積は Sham 群と同程度まで回復していた。セクレトーム解析により、SHED-CM は骨軟骨再生に関与する複数の因子を含むことが明らかとなった。

【結論】SHED-CM は多面的な治療効果により TMJOA の新たな治療薬になる可能性を示唆した。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

PM3-08 Factors secreted from dental pulp stem cells show multifaceted benefits for treating experimental temporomandibular joint osteoarthritis

○Kano F, Yamamoto A

Dept Anat Histol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

Objective: Temporomandibular joint osteoarthritis (TMJOA) is a degenerative disease characterized by progressive cartilage degeneration, abnormal bone remodeling, and chronic pain. In this study, we aimed to investigate effective therapies to reverse or suppress TMJOA progression.

Design: To this end, we performed intravenous administration of serum free conditioned media from human exfoliated deciduous teeth stem cells (SHED-CM) into a mechanical-stress induced murine TMJOA model.

Results: SHED-CM administration markedly suppressed temporal muscle inflammation, and improved bone integrity and surface smoothness of the destroyed condylar cartilage. Moreover, SHED-CM treatment decreased the number of IL-1b, iNOS, and MMP-13 expressing chondrocytes, whereas it specifically increased PCNA-positive cells in the multipotent polymorphic cell layer. Notably, the numbers of TUNEL-positive apoptotic chondrocytes in the SHED-CM treated condyles were significantly lower than in those treated with DMEM, demonstrating that SHED-CM treatment regenerated the mechanical-stress injured condylar cartilage and subchondral bone. Secretome analysis revealed that SHED-CM contained multiple therapeutic factors that act in osteochondral regeneration.

Conclusions: Our data demonstrated that SHED-CM treatment promoted the regeneration and repair of mechanical-stress induced mouse TMJOA. Our observations suggest that SHED-CM has potential to be a potent tissue-regenerating therapeutic agent for patients with severe TMJOA.

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

PM3-09 骨軟骨組織における TRPV4 遺伝子欠失の影響

○内野 加穂^{1,2,3}, 吉本 怜子¹, 高 イキ¹, 本田 裕子¹, 牧野 優徳¹, 澤田 孟志¹, 山下 佳雄², 城戸 瑞穂¹

¹佐賀大 医 組織・神経解剖, ²佐賀大 医 歯科口腔外科, ³日本学術振興会 特別研究員DC

【目的】TRPV4 (transient receptor potential-vanilloid 4) は浸透圧や温度, 内在性アラキドン酸, 力学的刺激などにより活性化される高カルシウム透過性の非選択的陽イオンチャネルである。TRPV4 は, 皮膚や肺, 腎臓, 脳など全身に発現し多様な疾患への関与することから創薬標的としての研究が進んでいる。TRPV4 の単一遺伝子病は骨格異常を呈し, 最も重症な致死性の変容性骨異形成症から, 軽症の常染色体優性遺伝性短体幹症まで広い表現型が報告されている。それらを受け, 骨の細胞における TRPV4 の発現や機能についての研究が進み, TRPV4 の軟骨内骨化における軟骨から骨への転換の障害が考えられているが, そのメカニズムは未だ明らかではない。本研究では, 骨形成過程における TRPV4 遺伝子欠失の影響を知ることを目的とした。

【方法】発生初期, および骨成長が活発な3週齢, 8週齢の野生型マウスと TRPV4 遺伝子欠失マウスを4%パラホルムアルデヒドリン酸緩衝液により灌流固定し, 脛骨を取り出した。組織は脱灰後, 通法に従って凍結切片を作製, 脛骨成長板軟骨の変化を HE 染色, ALP 染色, 細胞外基質タンパクや細胞の数や増殖分化を制御する YAP (yes-associated protein), そのパラログである TAZ (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif) などの特異的抗体を用い, 免疫染色により組織学的な解析を行なった。

【結果と考察】TRPV4 は野生型マウスの脛骨成長板軟骨に強い発現を示し, なかでも増殖層に強かった。軟骨細胞における TRPV4 発現は細胞膜および細胞突起に顕著であった。TRPV4 遺伝子欠失マウスの脛骨成長板軟骨の長さおよび細胞数は野生型と比較して有意に大きかった。また, TRPV4 遺伝子欠失マウスの成長板軟骨における I 型および II 型コラーゲンの発現量は野生型に比して有意に少なかった。以上より TRPV4 は軟骨組織に強く発現し, 軟骨基質形成を調節し, 軟骨内骨化に影響を与えていることが示唆された。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

PM3-09 The effect of TRPV4 deletion in bone and cartilage

○Uchino K^{1,2,3}, Yoshimoto RU¹, Gao WQ¹, Honda Y¹, Makino M¹, Sawada T¹, Yamashita Y², Kido MA¹

¹Div Histol Neuroanat, Fac Med, Saga Univ; ²Dept Oral Maxillofac Surg, Fac Med, Saga Univ; ³JSPS Research Fellow

Transient receptor potential-vanilloid 4 (TRPV4), a calcium permeable cation channel, is activated by hypo-osmolarity, temperatures, endogenous arachidonic acid, or mechanical stimulation. Mutations in human TRPV4 gene result in a bone dysplasia family and form a continuous phenotypic spectrum including lethal, or nonlethal metatropic dysplasia or familial digital arthropathy-brachydactyly. Thus, it is suggested that TRPV4 may contribute to endochondral ossification, however, the mechanisms are still unclear. In the present study, we analyzed 3- and 8-week-old wild-type and TRPV4 gene-deficient mice, to know TRPV4 involvement for bone development and active ossification. Mice were perfused transcardially with 4% paraformaldehyde in phosphate buffer, then tibia were dissected. After decalcification, frozen sections were processed for hematoxylin-eosin, alkaline phosphatase staining, and immunohistochemistry using specific antibodies. TRPV4 was expressed in growth plate of tibia, especially in the plasma membrane or cell protrusion of proliferating chondrocytes. We found significant wider width of growth plate and larger number of chondrocytes in TRPV4 gene deficient mice than that in wild-type. Furthermore, the expression of type I and type II collagen in growth plate of TRPV4 gene deficient mice were significantly less than that of wild-type. Future studies are needed to clarify the effect of TRPV4 deletion during the endochondral ossification.

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

PM3-10 唾液腺機能障害におけるヒト歯髄幹細胞由来細胞外小胞による予防効果の検討

○董 嬌, 酒井 陽, 小間 義朗, 渡邊 純奈, 日比 英晴

名大院医 顎顔面外科

PM3-10 Human dental pulp stem cell-derived extracellular vesicles prevent the functional damage caused by irradiated salivary gland

○Dong J, Sakai K, Koma Y, Watanabe J, Hibi H

Dept Oral Maxillofac Surg, Nagoya Univ Grad Sch Med

Purpose: Salivary gland dysfunction can be caused by Sjögren's syndrome, salivary gland tumors, radiation therapy, and chemotherapy of the head and neck. The quality of life may be impaired in severe xerostomia, in which inflammation of the parotid and submandibular glands causes their contraction, with a direct impact in chewing, swallowing, speaking, and tasting processes. To address these issues, the efficacy of extracellular vesicles (EVs) derived from dental pulp stem cells (DPSCs) was examined in a radiation-damaged salivary gland mouse model with a focus on cell senescence.

Materials & Methods: DPSCs were cultured in DMEM supplemented with 10% FBS at 37°C in a 5% CO₂ atmosphere, until 90% confluency. The culture medium was then replaced with Advanced DMEM and 48 hrs later, DPSC-EVs were extracted through four cycles of ultracentrifugation for 70 min at 4°C. Seven-week-old female ICR mice were used to establish a radiation-damaged salivary gland model via local irradiation (IR) with X-rays (25 Gy dose). All mice were then randomly assigned to one of the following three groups: 1) Control mice - no IR; 2) IR + PBS - 0.5 mL PBS was injected into the tail vein of IR mice; and 3) IR + DPSC-EVs - 5 µg/0.5 mL DPSC-EVs in PBS was injected into the tail vein of IR mice. Of note, injections were administered 3 times/week, for two weeks to each group. All animals were euthanized 18 days after irradiation, and salivary glands were collected bilaterally, and analyzed using histology and qRT-PCR.

Results & Conclusion: DPSC-EVs showed a particle size distribution of about 100 nm and expressed CD63, CD9, and CD81. Evaluation of the submandibular gland morphology showed that DPSC-EVs administration restored the submandibular gland size in irradiated mice to a level comparable to that of the sham groups. Furthermore, as per the SOD assay, the IR-PBS group showed lower values than those of the IR-DPSC-EVs group. Immunofluorescence staining showed a lower percentage of senescence-related β-galactosidase (SAβgal)- and p-H2AX-positive cells in IR-DPSC-EVs versus IR-PBS groups. Moreover, qRT-PCR revealed that the senescence-related genes p21, p53, p16, and the senescence-associated secretory phenotype (SASP) factors, such as Mmp3, IL-6, and MCP-1 were down-regulated in the IR-DPSC-EVs group compared to the IR-PBS group. These results indicate that DPSC-EVs reduce irradiation-induced inflammatory cytokines in the salivary glands and reverse the unbeneficial high-oxygenation microenvironment generated around salivary epithelium cells, thereby preventing senescence caused by irradiation.

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

PM3-11 サチライシン様前駆体蛋白質変換酵素 PACE4 のラット顎下腺発生過程における局在

○佐藤 匠^{1,2}, 姚 陳娟³, 長谷川 敬展³, 吉村 弘³, 赤松 徹也²

¹徳大 院創成科学 生物資源, ²徳大 院社会産業理工 生体分子機能, ³徳大 院医歯薬 口腔分子生理

【目的】我々はこれまでに、増殖・分化因子等の不活性型前駆体蛋白質の活性化に関わるサチライシン様前駆体蛋白質変換酵素である PACE4 について、ラット顎下腺発生過程における遺伝子発現やラット胎仔唾液腺器官培養系を用いた機能・発現抑制により顎下腺分枝形成や唾液分泌に関わる水チャネル AQP5 発現が抑制されること等を報告した。しかし、PACE4 酵素蛋白質の局在は現在も不明であり、本研究ではラット顎下腺発生過程における PACE4 酵素蛋白質の局在について解析した。

【方法】胎生 16 日から生後 30 日までの各発生時期のラット頭部または顎下腺切片を作製し、免疫組織化学により PACE4 の局在について解析した。合わせて AQP5 および増殖細胞核抗原 PCNA の局在についても解析した。

【結果・考察】胎生 16 日の唾液腺原基では腺房様構造が確認でき、PACE4 陽性反応が認められた。この唾液腺上皮細胞ではほぼ全ての細胞核で PCNA の局在が認められたが、AQP5 は検出されなかった。胎生 17 日に AQP5 陽性反応が初めて管腔膜と思われる部位で認められた。生後になると PACE4 は腺房での発現は減少し、導管での発現が強く認められた。更に唾液腺細胞の分化・成熟の進行に伴い PACE4 陽性反応が認められない腺房細胞が出現し、その数も増加した。一方、AQP5 の局在は腺房細胞管腔膜で顕著に認められるようになり、細胞の分化・成熟の進行に伴い、唾液腺機能の構築が示唆された。これらの腺房細胞では PACE4 および PCNA の局在は殆ど認められなかった。以上の結果から、唾液腺発生過程における PACE4 酵素蛋白質の局在は、基本的には PACE4 遺伝子発現パターンと同様の傾向を示したが、生後の一部の導管細胞では発現が持続することが明らかになった。唾液腺導管細胞には以前から唾液腺幹細胞の存在が提唱されており、この PACE4 発現が持続する導管細胞が唾液腺幹細胞であ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。

PM3-11 Localization of subtilisin-like proprotein convertase PACE4 in the course of development of the rat submandibular gland

○Sato T^{1,2}, Yao C³, Hasegawa T³, Yoshimura H³, Akamatsu T²

¹Div Biores Sci, Grad Sch Sci Technol Innov, Tokushima Univ; ²Field Biomol Func Technol, Grad Sch Technol Industr Soc Sci, Tokushima Univ; ³Dept Mol Oral Physiol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

We previously reported the expression of subtilisin-like proprotein convertase PACE4 during development of rat submandibular gland (SMG), and also that its inhibition and transcriptional silencing reduces the branching morphogenesis and expression of water channel AQP5 in the rat embryonic SMG. But the localization of PACE4 protein in the developing rat SMG is still unknown. We therefore analyzed the localization of PACE4 protein in the developing rat SMG.

Localization of PACE4 together with AQP5 and PCNA (proliferating cell nuclear antigen) were analyzed by immunohistochemistry with tissue sections of rat SMG at various developmental stages from embryonic day 16 (E16) to postnatal day 30 (P30).

PACE4 was immunopositive in the acinar-like structure, while PCNA was detected in almost all cell nuclei of submandibular epithelial cells at E16. AQP5 was first detected at the considerable luminal membrane of acinar cells at E17. During postnatal development, PACE4 immunoreactivity was still intense in the duct, but decrease in the acinus. With the advance of cytodifferentiation, AQP5 was conspicuously localized at the apical membrane of mature acinar cells, while PACE4 and PCNA were not detected in most of the submandibular cells, except for few specific duct cells, suggesting the possibility of the submandibular stem cells.

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

PM3-12 ヒノキチオールは抗菌活性および抗炎症作用によるマウス歯牙結紮歯周炎モデル骨吸収抑制作用の解析

○日吉 巧^{1,2}, 土門 久哲^{1,3}, 前川 知樹^{1,2,3}, 田村 光^{1,2,3}, 國友 栄治⁴, 寺尾 豊^{1,3}

¹新潟大 院医歯 微生物, ²新潟大 院医歯 歯周診断・再建, ³新潟大 院医歯 高度口腔機能教研セ, ⁴小林製薬 中央研

【目的】ヒノキチオールは、歯周病原細菌に対して抗菌活性を有しており、歯磨剤や口腔軟膏等に用いられている。本研究では、マウス歯牙結紮歯周炎モデルを用いて、ヒノキチオールの局所投与が、結紮糸中の総細菌数、歯肉における炎症性サイトカイン転写活性および歯槽骨吸収に与える影響を解析した。また、ヒノキチオールの抗炎症作用を *in vitro* において解析した。【材料と方法】8週齢 Balb/c マウスの上顎第二臼歯に絹糸を結紮し、歯周炎を誘発した。続いて、同マウスの口蓋歯肉に、1日1回、計7日間ハミルトンシリンジを用いてヒノキチオール (10 μ g/5 μ L) を投与した。8日目に絹糸を採取し、付着した総細菌数をコロニーカウント法にて解析した。同時に歯肉を採取し、炎症性サイトカイン転写レベルをリアルタイム PCR 法にて解析した。続いて、上顎骨の凍結切片を作製し、第二臼歯周囲に存在する酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ陽性細胞数をカウントした。さらに、実体顕微鏡およびマイクロ CT を用いて、第二臼歯周囲の歯槽骨吸収量を定量した。 *in vitro* におけるヒノキチオールの抗炎症作用を解析するため、ヒノキチオール (5-20 μ g/mL) で前処理した RAW 264.7 マウスマクロファージに LPS (100 ng/mL) を添加し、炎症性サイトカイン転写レベルを定量した。【結果と考察】マウス歯牙結紮歯周炎モデルにおいて、ヒノキチオール投与群では、未投与群と比較して、結紮糸中の総細菌数および歯肉における炎症性サイトカイン転写レベルが有意に低かった。また、PBS 投与群と比較し、ヒノキチオール投与群の破骨細胞数および歯槽骨吸収量は少なかった。RAW 264.7 マウスマクロファージにおいて、ヒノキチオール添加群では、未添加群と比較して、LPS が誘導する炎症性サイトカイン転写レベルが有意に低下していた。【結論】ヒノキチオールは抗菌活性および抗炎症作用を有し、歯周炎による歯槽骨吸収を抑制する可能性が示唆された。

【利益相反】 著者は利益相反状態にあります。

PM3-12 Antibacterial, anti-inflammatory and periodontal bone loss inhibitory activity of hinokitiol in ligature-induced experimental periodontitis in murine

○Hiyoshi T^{1,2}, Domon H^{1,3}, Maekawa T^{1,2,3}, Tamura H^{1,2,3}, Kunitomo E⁴, Terao Y^{1,3}

¹Div Microbiol Infect Dis, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ²Div Periodontol, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ³Res Center Adv Oral Sci, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ⁴Central R&D Lab, Kobayashi Pharm Co, Ltd

Objective: Hinokitiol exhibits antibacterial activity against periodontal pathogenic bacteria and is used in toothpaste and oral-care gel. In this study, we investigated the effects of hinokitiol on bacterial counts in silk-ligature, proinflammatory gene transcription in gingival tissue, and periodontal bone loss in a murine model of experimental periodontitis. **Design:** Hinokitiol was injected once a day for 7 days into the palatal gingiva of murine periodontitis model. The bacterial counts of the silk-ligature were calculated by colony counting method. The transcription levels of proinflammatory genes in the palatal gingiva were evaluated by real-time qPCR. The number of TRAP positive cells around the molar were quantified, and alveolar bone loss was assessed morphometrically. The activity of hinokitiol against LPS-induced proinflammatory gene transcriptions in RAW 264.7 macrophages were examined. **Results:** Hinokitiol treatment decreased the bacterial counts of the silk-ligature and downregulated the transcription of proinflammatory genes in murine periodontitis model. In addition, hinokitiol significantly inhibited the osteoclast differentiation and alveolar bone loss induced by tooth ligation. Hinokitiol also downregulated the LPS-induced proinflammatory gene transcription in RAW 264.7 macrophages. **Conclusion:** Hinokitiol exhibits antibacterial and anti-inflammatory activity and exerts a protective effect against periodontal bone loss.

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

PM3-13 EBV LMP1 は NF- κ B を活性化を介し歯肉上皮細胞からの炎症性サイトカイン産生を誘導する

○渡辺 典久¹, 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】 歯周病が全身の健康を脅かすことが明らかとなり、歯周病対策の重要度が増しており、近年、新たな病原因子として Epstein-Barr Virus (EBV) が注目されている。実際に、患者歯肉やポケット中の EBV 検出率と病気の重症度とに相関があることが報告されている。しかし、EBV がどのように歯周病の発症と進行に関与しているかは不明である。最近、EBV が歯肉上皮細胞にも感染していること、EBV の膜蛋白遺伝子 Latent membrane protein (LMP1) の発現と歯周ポケット深さとの関連していることが示された。そこで今回、LMP1 は炎症性サイトカインを誘導することで、歯周病の発症に関与しているのではないかと推察し実験を行った。

【方法】 歯肉上皮細胞株 (Ca9-22) に、LMP1 及びその変異型の発現ベクターを導入後、各種サイトカインの mRNA は RT-PCR、培養上清中の IL-8 量は ELISA にて定量した。NF- κ B の活性化は WB 法と Luciferase assay を行い検討した。

【結果と考察】 LMP1 の導入により、IL-1 β 、IL-8 及び TNF- α の mRNA 発現上昇が認められた。特に、IL-8 の mRNA の発現は顕著で、LMP1 の導入量及び時間依存的に大量の IL-8 産生が誘導された。また、LMP1 は NF- κ B を活性化すること、DN 型 I κ B α が LMP1 誘導性 IL-8 産生を抑制することが解った。さらに、 Δ LMP1 を用いた実験から、LMP1 の TRAF と TRADD 結合領域が LMP1 による IL-8 産生に必須であることが明らかとなった。今回の結果から、LMP1 誘導性の炎症性サイトカインが破骨細胞形成を促進する等により歯周病の発症に深く関与していることが示唆された。EBV 関与機構の解明は、これまで細菌感染のみでは説明が困難であった歯周病発症機序の解明に繋がる可能性がある。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM3-13 EBV LMP1 in gingival epithelium potentially contributes to human chronic periodontitis via inducible IL8 production

○Watanabe N¹, Yokoe S^{1,2}, Sato S¹, Imai K²

¹Dept Periodontol, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent

Background/aim: Although some oral bacteria have been reported to be putative pathogens, Epstein-Barr virus (EBV) is reported to be associated with the progression of periodontitis. However, the role of EBV in the aetiology of periodontitis is unknown. Therefore, we investigated periodontal pathogenesis of EBV to confirm whether EBV-encoded latent membrane protein 1 (LMP1) induces Interleukin-8 (IL8) production in human gingival cells.

Materials and methods: Real-time polymerase chain reaction, luciferase assay, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and western blotting were performed for determining IL8 mRNA expression, nuclear factor kappa B (NF- κ B) transcription, IL8 production, and the phosphorylation of NF- κ B p65 and Inhibitor of kappa B alpha (I κ B α), respectively, in Ca9-22 human gingival epithelial cells. Two LMP1 mutants lacking C-terminal activating region (CATR) domains responsible for activating NF- κ B were used.

Results: High IL8 production was induced by LMP1, where simultaneous phosphorylation of NF- κ B p65 and I κ B α and transcription of NF- κ B were observed. On the contrary, IL8 production and NF- κ B transcription were drastically inhibited by dominant negative mutant of I κ B α . Moreover, the LMP1 mutants failed to induce IL8 production.

Conclusion: Our findings suggest that due to CATR domains, LMP1 contributes to the progression of periodontitis via IL8 production attributable to NF- κ B activation.

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

PM3-14 GroEL を用いた経鼻ワクチンによる歯周病抑制効果の検討

○Chang Emily¹, 小林 良喜², 落合 智子²

¹日大 松戸歯 口外, ²日大 松戸歯 感染免疫

【目的】 歯周病は歯を喪失する主要な原因となる口腔感染症であり, 複数の歯周病原性細菌が関与している。経鼻ワクチンは, 全身系免疫および粘膜系免疫を共に誘導できる簡便かつ低侵襲的なワクチンである。本研究では, *Porphyromonas gingivalis* を免疫抗原として, 歯周病原性細菌に共通する, 熱ショックタンパク質 (HSP) 60 の homolog である *P. gingivalis* リコンビナント GroEL を標的とする経鼻ワクチンの有用性を検討した。

【方法】 リコンビナント GroEL および粘膜アジュバント CpG ODN をワクチン抗原とし, BALB/ c マウスに週 1 回, 3 週間経鼻免疫を行った。最終免疫から 1 週間後に血清および唾液を採取し, 血清中および唾液中の GroEL 特異的抗体価を ELISA 法にて解析した。さらに, *P. gingivalis* 381 をマウスに週 5 回, 3 週間経口感染させ, 炎症性サイトカインの発現量を検討した。最終感染から 30 日後, マイクロコンピューター断層撮影 (micro-CT) にて骨吸収レベルを測定した。

【結果】 GroEL での経鼻ワクチンは最終投与から 1 週間後に, GroEL 特異的 IgG, IgA, および分泌型 IgA 抗体を誘導した。*P. gingivalis* をマウスに経口感染後の micro-CT データにより, 経鼻ワクチン免疫群は非免疫群と比較して歯槽骨吸収を有意に抑制した。さらに, *P. gingivalis* 感染によって増加した歯肉中の炎症性サイトカイン TNF- α , IL-6 および HSP60 の mRNA レベルは経鼻ワクチン投与により有意に減少を示した。

【考察】 GroEL を使用した経鼻ワクチンは全身免疫および口腔内の粘膜免疫応答を誘導する非常に有効な手段であり, 歯周病を予防するための効果的で安全なワクチンの候補として期待される。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM3-14 Nasal vaccination with GroEL plus CpG ODN inhibits *P. gingivalis*-induced inflammation and alveolar bone loss

○Chang E¹, Kobayashi R², Kurita-Ochiai T²

¹Dept Oral Surg, Nihon Univ Sch Dent Matsudo; ²Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo

Periodontal disease is a mixed infection and involves multiple bacteria. Among them, the *Porphyromonas gingivalis* which is key stone pathogen, has multiple pathogenic factors and is deeply involved in the development of chronic periodontitis. Nasal vaccination is a simple and minimally invasive vaccine allowing the development of both systemic and local immune responses, and is thus optimal for preventing periodontal disease. In this study, we assessed the capacity of a nasal vaccine targeting recombinant HSP60 from *Porphyromonas gingivalis* (GroEL) to induce protective mucosal immune responses. Nasal immunization of mice with GroEL using CpG oligodeoxynucleotides (CpG ODN) as a mucosal adjuvant increased high levels of GroEL-specific serum immunoglobulins (Ig) G and IgA, and secretory IgA (S-IgA) antibody (Ab) titers. Importantly, when *P. gingivalis* was orally administered to mice, micro-computed tomography (micro-CT) data showed that vaccination with GroEL and GpG ODN significantly reduced alveolar bone loss. In addition, TNF- α , IL-6, and HSP60 mRNA levels increased by *P. gingivalis* challenge were significantly suppressed by nasal immunization using GroEL plus GpG ODN. These results suggest that nasal vaccine using GroEL may be candidates for efficient and safe vaccines against periodontal infections.

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

PM3-15 S-PRG フィラーから放出されるイオン水の口腔微生物発育阻止効果

○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日大歯 総歯研 生体防御

【目的】近年、う蝕や歯周病は口腔内疾患のみならず全身疾患との関連性が数多く報告されていることから、これら疾患の予防は国民の健康維持のために重要である。主な予防法は歯垢除去であり歯磨きなどの他に口腔ケア剤が使用されている。しかし、口腔ケア剤の中には長期使用による耐性菌の出現などが懸念されているものがあることから、長期使用可能な新たな抗菌作用を有する歯科材料の開発が急務である。一方、S-PRG フィラーは6種のイオンを放出するリチャージ可能な新規バイオアクティブマテリアルであるが、口腔微生物に及ぼす抗菌効果の報告は未だ少ない。今回、S-PRG フィラーの口腔微生物に及ぼす発育抑制効果を確認し臨床応用への可能性を検討した。

【方法】S-PRG フィラー(株式会社 松風)を精製水に24時間浸漬した上清を試料(イオン水)とした。被験菌として *Streptococcus mutans* や *Actinomyces naeslundii* などのグラム陽性菌群, *Porphyromonas gingivalis* などの歯周病原菌群, *Candida albicans* および一般病原菌2菌種を2~5菌株ずつ用いた。発育阻止効果は各濃度でイオン水を添加した培地で24~48時間培養後の濁度で評価した。また、供試菌の50%発育阻止イオン水濃度(MIC50)を濁度法とコロニー形成法で算出して比較検討した。

【結果および考察】供試した菌種で培地添加イオン水の濃度に依存して発育阻止効果が見られた。特に歯周病原菌と *C. albicans* では8-4倍希釈濃度で発育は認められなかった。MIC50は各菌種間で差は認められたものの、菌種によっては評価方法で結果が異なったため、この種の実験は培地形態の影響を考慮すべきと示唆された。以上の結果から、S-PRG フィラーから放出されるイオン水は口腔微生物の発育を抑制し、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】著者は利益相反がないことを宣言する。

PM3-15 Ionic water released from S-PRG filler effects oral microbial growth

○Kono Y^{1,2}, Tamura M^{3,4}, Imai K^{3,4}

¹Div Oral Struct Funct Sci, Nihon Univ Grad Sch Dent; ²Dept Oral Maxillofac Surg, Nihon Univ Sch Dent; ³Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent; ⁴Div Immunol Pathobiol, Dent Res Center, Nihon Univ Sch Dent

In recent years, it has been reported that both dental caries and periodontal disease are associated not only oral to diseases but also to systemic diseases. The major prevention against these diseases are tooth brushing and oral care agents, however, many oral care agents cannot withstand long-term use. S-PRG filler was developed as a new rechargeable bioactive material that releases 6 types of ions. The growth inhibitory effect of S-PRG filler on oral microorganisms was confirmed and ionized water released from the S-PRG filler was used as a sample. Oral microbes and general pathogens were used as test microorganisms. The growth inhibitory effect was examined using the turbidity method and 50% growth inhibitory ion water concentration (MIC50) was examined by both turbidity and colony formation methods. A growth inhibitory effect was observed depending on the concentration of ionized water added to the medium in all the tested strains. There was a difference in MIC50 among the bacterial species. From the above results, it was suggested that the ionic water released from the S-PRG filler showed a growth inhibitory effect on oral microorganisms and could be applied clinically.

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

PM3-16 グリシンにより誘導された細菌メンブレンベシクルの特性解析—歯周病原細菌ベシクルワクチンの粘膜アジュバント開発等に向けて—

○平山 悟, 中尾 龍馬

国立感染症研 細菌第一部

細菌はメンブレンベシクル (MV) と呼ばれる膜小胞を細胞外に放出する。MV は多面的な機能を有するため、アジュバントやワクチン抗原等への応用展開も期待されている。本研究では、グリシン存在下で MV 産生が顕著に増大することを見出したため、今後の応用研究を見据え、グリシン誘導 MV の詳細解析を行った。

プロバイオティクスとして用いられる *E. coli* Nissle 1917 (EcN) 株を供試菌とし、べん毛の MV 画分への混入を防ぐため、べん毛欠損株を作出した。本株を 1.0% グリシン存在下で培養することにより、非誘導条件下に比較してタンパク質量として約 70 倍、脂質量として約 50 倍に MV 収量が増大した。グリシン誘導 MV は粒径が有意に大きくなるとともに、タンパク質構成が変化し、内膜や細胞質タンパク質の割合が増大していることが示された。また、グリシン誘導 MV では、タンパク質量あたりのエンドトキシン活性が約 1/8 に減少した。一方で、グリシン誘導の有無に関わらず、EcN MV は、マクロファージ様細胞 J774.1 の IL-6, IL-12 及び TNF- α 産生を添加量依存的に誘導した。また、OVA を抗原に用いた BALB/c マウス経鼻免疫実験においては、コレラトキシン B や Poly (I:C) と同等かそれ以上に強力な粘膜アジュバント活性を示した。さらに *Porphyromonas gingivalis* (Pg) MV のマウス経鼻免疫実験においては、Pg MV の単独投与に比べ、Pg MV と EcN MV の複合投与にて Pg 特異的抗体の産生が著しく増強した。以上より、グリシンで誘導された EcN MV が有する上記の利点を活用して、安全で効果的なアジュバントやワクチン開発等、様々な分野への応用・展開が期待される。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM3-16 Characterization of bacterial membrane vesicles induced by glycine - Development of mucosal adjuvant for periodontal bacterial vesicle vaccine -

○Hirayama S, Nakao R

Dept Bacteriol I, Natl Inst Infect Dis

Bacteria release extracellular vesicles called membrane vesicles (MV). Since MV has a multiple function, it is expected to be applied to mucosal adjuvants and new vaccine antigens. In this study, we aimed to characterize *Escherichia coli* MVs that were significantly induced by glycine supplementation. A flagella-deficient strain of *E. coli* Nissle 1917 (EcN) was created to prevent contamination of flagella to the MV fraction. By culturing this strain in the presence of glycine, the MV yield was increased by approximately 70-fold as the amount of protein. In glycine-induced MV, the endotoxin activity per protein amount was reduced to approximately 1/8. Nevertheless, it was shown that both glycine-induced and non-induced MVs induced cytokines in J774.1 cells in a dose-dependent manner. When mice were intranasally immunized with MV together with OVA, antibody production against OVA was similar between glycine-induced and non-induced MVs. Furthermore, by intranasally immunizing mice with *Porphyromonas gingivalis* MV and EcN MV, antibody production against *P. gingivalis* was significantly induced. From these results, it was considered that the induction of EcN MV by glycine is an effective approach.

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

PM3-17 バイオフィルムに着目したう蝕予防法の開発に向けた新しいアプローチ

○有田（森岡） 健一^{1,2}, 永尾 潤一^{1,2}, 成田 由香^{1,2}, 根来（安松） 香奈江¹, 田崎 園子¹, 田中 芳彦^{1,2}

¹福歯大 感染生物, ²福歯大 口腔医学研究セ

バイオフィルムが形成されることにより、バイオフィルム中の細菌は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。う蝕（虫歯）は、口腔内の2大感染症の一つであり、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、う蝕の予防法、治療法に繋げるためには、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が重要になってくると考えられる。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において、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用いて検証している。一つ目にはう蝕原性菌のバイオフィルム形成を微生物学的なアプローチから予防する方法では、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 *in vitro* で検証を行った。二つ目はバイオフィルム形成を免疫学的なアプローチから阻害する方法である。生体内の防御因子である分泌型 IgA などを生体内に増やすことで、う蝕原性菌のバイオフィルム形成を免疫学的なアプローチから予防することが可能になると考えられる。特定の病原微生物を標的とする粘膜免疫応答では、ヘルパー T 細胞依存的な応答によって生じる抗原特異的な分泌型 IgA 抗体が、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、ヘルパー T 細胞依存的に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み評価を行った。(1) Arita-Morioka et al. Antimicrob. Agents Chemother. 2015, (2) Arita-Morioka et al. Sci. Rep. 2018

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM3-17 A novel strategy for preventing dental caries focusing on bacterial biofilms

○Arita-Morioka K^{1,2}, Nagao J^{1,2}, Narita Y^{1,2}, Negoro-Yasumatsu K¹, Tasaki S¹, Tanaka Y^{1,2}

¹Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll; ²Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll

Biofilms are 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 cariogenic bacterial biofilm formation. Therefore, the reduction of stable biofilm formation is an effective method to prevent dental caries. We used two approaches to prevent cariogenic bacterial biofilm formation. First, we used 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 author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

PM3-18 施設入所高齢者の舌常在細菌叢における口腔非常在細菌の同定○朝川 美加李¹, 竹下 徹^{1,2}, 影山 伸哉¹, 山下 喜久¹¹九大 院歯 口腔予防, ²九大 院歯 OBT研究セ

舌背表面には複雑な常在微生物群集が存在し、唾液中の細菌群集を最も反映する部位として知られており、これらの細菌は唾液を介して絶えず下部消化管や呼吸器官へと運ばれている。特に嚥下機能の低下した高齢者においてはこれらの細菌が肺へ流入し、誤嚥性肺炎の発症に寄与することが示唆されているが、舌細菌叢と身体機能との関連については未だ不明である。本研究では施設入所高齢者の舌苔の細菌構成を解析し、その解析結果と身体機能との関連について検討を行った。対象者は福岡県および熊本県の施設入所高齢者 325 人とし、舌苔を採取した。舌苔検体より DNA を抽出し、細菌共通配列であるプライマーを用いて 16S rRNA 領域 (V1-V2) の遺伝子を網羅的に増幅した。増幅断片の塩基配列を次世代シーケンサー Ion PGM を用いて解読し、塩基配列情報を基にそれぞれの検体の細菌構成を明らかにした。さらに口腔常在細菌の占める割合が 75% 未満に低下していた 18 名については、16S RNA 遺伝子の全領域 (V1-V9) の塩基配列をロングリードシーケンサー PacBio Sequel を用いて解読し、より正確な細菌種同定を行った。解析の結果、多数の対象者の舌細菌叢は *Streptococcus salivarius* や *Rothia mucilaginosa* のように一般的に口腔に常在すると考えられている細菌が優勢であった。一方で、対象者によってはこれらの口腔常在細菌の総構成比率の低下が認められ、一部には口腔非常在細菌との比率が逆転している者も見られた。また、口腔常在細菌の総構成比率の低下は栄養状態の低下と有意な関係を認めた。ロングリードシーケンスの結果、口腔非常在細菌が *Staphylococcus aureus* や *Actinomyces radidentis* などであることが同定できた。以上より、施設入所高齢者の舌細菌叢における口腔非常在細菌の構成比の低下が栄養状態の低下と有意に関連することが確認できた。【会員外共同研究者】古田 美智子, 須磨 紫乃, 竹内 研時, 我那覇 生純, 泉 繭衣

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。**PM3-18 Identification of non-oral bacteria on the tongue dorsum of frail elderly adults**○Asakawa M¹, Takeshita T^{1,2}, Kageyama S¹, Yamashita Y¹¹Sect Prev Dent Publ Health, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²OBT Res Center, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

Tongue microbiota is a primary source of numerous microbial populations constantly ingested with saliva, and the overgrowth of unfamiliar bacteria would unexpectedly threaten the health of elderly adults susceptible to swallowing impairment. This study analyzed tongue microbiota composition of 325 institutionalized frail elderly adults aged ≥ 70 years by 16S rRNA gene amplicon sequencing approach. The V1-V2 regions of the 16S rRNA gene sequencing analysis revealed that the microbiota of most subjects was constituted by oral bacterial taxa commonly shared across elderly adults, such as *Streptococcus salivarius* and *Rothia mucilaginosa*. On the other hand, the total relative abundance of oral bacterial taxa, which are deposited as primarily inhabiting the oral cavity in the expanded Human Oral Microbiome Database, was significantly decreased in subjects with poor nutritional condition. The full-length 16S rRNA gene sequencing analysis of 18 individuals with the lower abundance of oral bacterial taxa identified that *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces radidentis*, and *Streptococcus agalactiae* are predominant in their tongue microbiota. These results suggest that tongue dorsum could be a reservoir of non-oral bacteria in the frail elderly adults, especially those with declined nutritional condition. (Non-member collaborators: Michiko Furuta, Shino Suma, Kenji Takeuchi, Seijun Ganaha, Maya Izumi)

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

PM3-19 肺炎球菌が非血行性に脳へ伝播する機構の解析○高原 悠樹^{1,2}, 住友 倫子¹, 山口 雅也¹, 中田 匡宣¹, 川端 重忠¹¹阪大 院菌 口腔細菌, ²阪大 院菌 クラウンブリッジ

鼻咽腔に定着する細菌は血行性に血液脳関門を介して髄膜へ伝播し、細菌性髄膜炎を発症させると推察されている。本疾患の治療には、髄液移行性が高い抗菌薬の静脈内投与が推奨されている。しかし、致死率と後遺症の発生率は依然として高く、感染制御法の確立が求められている。細菌性髄膜炎の臨床病理像を鑑みて、鼻咽腔に定着する細菌は、血行性伝播だけでなく、嗅覚神経経路を介して脳へ伝播すると仮定した。本研究では、肺炎球菌をモデル細菌として、鼻腔から非血行性に脳内へ到達するかについて解析を行った。

中耳炎由来の肺炎球菌 EF3030 株（血清型 19F）をマウス（Balb/c, メス, 6 週齢）の鼻腔内に感染させ、肺炎球菌性髄膜炎モデルとした。この感染モデルでは、菌血症と重症肺炎の病態は認められなかった。脳組織ホモジネート中の菌数の測定と病理組織解析により、肺炎球菌が脳の嗅球から大脳と小脳に向かって侵入するという現象を発見した。また、EF3030 株を親株として、コンピテント刺激ペプチドを用いた相同組換えにより、ニューモライシン遺伝子 (*ply*) 欠失株を作製した。感染 1, 3, 7, 28 日後において、野生株と *ply* 欠失株の鼻粘膜上皮への定着菌数に有意差は認められなかったが、嗅球、大脳、および小脳への伝播能は *ply* 遺伝子の欠失により著しく低下した。さらに、組換えニューモライシンを経鼻投与した 24 時間後に *ply* 欠失株を経鼻感染させた結果、野生株と同程度の脳伝播能が認められた。

以上の結果から、鼻粘膜上皮に定着した肺炎球菌はニューモライシン依存的に、嗅神経経路を介して、非血行性に脳組織へ伝播することが示唆された。

【会員外共同研究者】河野 正充, 保富 宗城 (和歌山県立医科大学・耳鼻咽喉科・頭頸部外科)

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

PM3-19 Non-hematogenous pneumococcal dissemination to brain tissue○Takahara Y^{1,2}, Sumitomo T¹, Yamaguchi M¹, Nakata M¹, Kawabata S¹¹Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent; ²Dept Fixed Prosthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent

Bacterial meningitis is considered to be caused by bacteremia and the following blood-brain barrier disruption and dissemination of bacteria into the central nervous system. Despite the availability of intravenously administered antibiotics with cerebrospinal fluid transferability, bacterial meningitis remains associated with high rates of morbidity and mortality. To investigate the mechanism by which *Streptococcus pneumoniae*, a colonizer of the nasopharynx, spreads to brain tissue, we utilized strain EF3030, clinically isolated from otitis media, for construction of a murine infection model. While neither bacteremia nor pneumonia was observed in this model, pneumococci were isolated from the frontal olfactory bulb, caudal cerebrum, and cerebellum. Notably, deletion of the *ply* gene encoding pneumolysin markedly compromised the ability of the organisms to disseminate into brain tissue. Furthermore, nasal administration of recombinant pneumolysin resulted in an increased bacterial burden of the Δ *ply* strain in each brain segment. Taken together, our findings indicate that pneumolysin allows *S. pneumoniae* to disseminate from the nasopharynx into brain tissue in a non-hematogenous manner via the olfactory nerve pathway.

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

PM3-20 歯周炎の重症度と唾液中の縁下特異細菌との関係

○馬 佳楽, 影山 伸哉, 竹下 徹, 朝川 美加李, 山下 喜久

九大 院歯 口腔予防

PM3-20 Relationship between periodontitis severity and combination of abundance and diversity of subgingival plaque-specific bacteria in salivary microbiota

○Ma J, Kageyama S, Takeshita T, Asakawa M, Yamashita Y

Sect Prev Dent Publ Health, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

Purpose: Saliva contains diverse bacteria shed from various oral sites. Therefore, salivary microbiota can be a promising tool for assessing oral health. This study aims to explore the detailed relationship between the severity of periodontitis and the subgingival plaque-specific bacteria (SUBP bacteria) in the salivary microbiota.

Materials & Methods: Stimulated saliva samples were collected from 125 subjects (25 periodontally healthy subjects and 100 chronic periodontitis patients) who visited the 3 dental clinics. The bacterial composition of 12 SUBP bacteria, which were identified in our previous study, were determined using 16S rRNA gene (V1-V2 regions) sequencing. We classified the subjects into 4 groups based on the total relative abundance of SUBP bacteria (0, >0 & <0.1%, ≥0.1 & <1%, ≥1%) or 6 groups based on the detection number of SUBP bacteria (0, 1-2, 3-4, 5-6, 7-8, 9-10).

Results & Conclusion: Compared to the subjects with no SUBP bacteria, the average number of diseased sites (≥4 mm pocket depth) was significantly higher in the subjects with ≥1% of total abundance of SUBP bacteria ($P<0.001$) and with 9-10 SUBP bacteria ($P<0.05$) according to the linear regression analysis. In addition to them, subjects who only 1-2 SUBP bacteria were detected but they accounted for ≥0.1 & <1% in salivary microbiota also showed a significantly high average number of diseased sites ($P<0.01$). These results suggest the combination utility of both relative abundance and detection number of SUBP bacteria in salivary microbiota for evaluating the severity of periodontitis.

Non-member Collaborators: Wataru Yamanaka (YA Dent Clin), Kenji Misaka (Misaka Dent Clin), Hisae Sato (Happy Dent Clin)

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

PM3-21 松果体ホルモンメラトニンはミトコンドリア機能制御を通して自然免疫細胞の活性化制御を行う

○菊池 真理子^{1,2}, 嘉手納 未季^{2,3}, 桑田 啓貴²

¹昭大 院歯 地域連携, ²昭大 歯 口腔微生物, ³昭大 歯 スペシャルニーズ口腔医学 障害者

【目的】 メラトニンは松果体の他に唾液腺や免疫器官でも合成され、免疫反応を含めた様々な生体反応を調節する。これまで我々は、メラトニンが自然免疫系細胞に対して抑制的に働き、抗炎症作用を示すことを明らかにしてきた。今回さらにメラトニンによるミトコンドリアの機能調節がウイルス感染における自然免疫系の活性化制御に重要であることを見出したので報告する。

【方法】 自然免疫系細胞のマクロファージをメラトニンで処置し Mitotracker Orange で染色、共焦点顕微鏡により生細胞イメージングを行い、メラトニンによるミトコンドリアの形態変化を観察した。次にミトコンドリアの機能変化を調べるため、産生された細胞内 ATP 量を比較した。

【結果】 通常のミトコンドリアは細胞質全体に管状の網様構造を形成し、絶えず融合と分裂を繰り返して機能を維持しているが、メラトニン処理によりミトコンドリアの形態は断片化していた。メラトニン処理でも細胞質中のミトコンドリア総量には変化がなく、メラトニンによる機能抑制は可逆的なものと考えられた。また、メラトニン処理により、細胞内 ATP 量の減少が確認された。これは、メラトニンがミトコンドリアによる酸素を取り込んだ ATP 産生を抑制することによると考えられた。

【考察】 以前の結果から、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、抗ウイルス免疫に働くことが分かっている。今回の結果より、メラトニンは細胞のミトコンドリア機能の抑制により好気環境でのエネルギー産生を優位に抑制し、結果としてウイルスの細胞侵入を抑制すると考えられた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM3-21 The pineal gland hormone melatonin regulates the activation of innate immune cells through the regulation of mitochondrial function

○Kikuchi M^{1,2}, Kadana M^{2,3}, Kuwata H²

¹Dept Community-Based Compr Dent, Grad Sch Dent, Showa University; ²Dept Microbiol Immunol, Sch Dent, Showa Univ; ³Div Dent Persons Disabil, Dept Spec Needs Dent, Sch Dent, Showa Univ

Purpose: Melatonin is synthesized in the salivary glands and immune organs in addition to the pineal gland and regulates a variety of biological responses, including the immune response. Previously, we have shown that melatonin has an anti-inflammatory effect on the innate immune system. We found that melatonin-mediated regulation of mitochondrial function is critical for the regulation of the activation of the innate immune cells during viral infection.

Materials & Methods: Macrophages were treated with melatonin, stained with Mitotracker, and live-cell imaging was performed by confocal microscopy to observe melatonin-induced mitochondrial morphological changes. Next, we compared the amount of intracellular ATP produced to examine changes in mitochondrial function.

Results & Conclusion: Although normal mitochondria maintain constant morphological fluidity and function, melatonin treatment fragmented the mitochondrial shape. Melatonin did not alter the total mitochondrial abundance in the cytoplasm, suggesting that the suppression by melatonin is reversible. Additionally, a decrease in intracellular ATP levels was observed with melatonin. This suggests that melatonin inhibits ATP production aerobically. Previous results have shown that melatonin reduces the viral entry into macrophages that works on antiviral immunity. These results suggest that melatonin predominantly suppresses energy production by suppressing mitochondrial function, resulting in the suppression of viral cell invasion.

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

PM3-22 アルデヒド脱水素酵素 2 (ALDH2) 遺伝子多型と喘息の関連

○牧野 優徳, 吉本 怜子, 高 イキ, 本田 裕子, 内野 加穂, 澤田 孟志, 城戸 瑞穂

佐賀大 医 組織・神経解剖

アルデヒド脱水素酵素 2 (*ALDH2*) はホルムアルデヒド, アセトアルデヒド, アクロレイン, 4 ヒドロキシノネナールなど, 内因性・外因性のアルデヒドを解毒する. *ALDH2* 遺伝子の多型 *rs671* は顕著な表現型 (活性の低下) を示し, 変異型アレルは一般に *ALDH2*2* と呼ばれる. *ALDH2*2* は東アジアに限って保有者が多く, 約半数が *ALDH2*2* 保有者である. *ALDH2*2* は, アルコール依存症や高血圧などの保護因子となることが知られる一方, 飲酒誘導性悪性腫瘍や頭頸部ガン, 骨粗鬆症などのリスクとなることが報告されている. これまでにアレルギー性疾患との関連はほとんど報告されていないが, アルデヒドが気道収縮を惹起するとの報告があり, *ALDH2* 多型との関連が疑われる. そこで, 佐賀市住民対象コホート (40-69 歳) のデータベースを用い, 喘息既往と *ALDH2* 遺伝子多型との関連を調べた. *ALDH2* 遺伝子型は活性が高い野生型ホモ接合体 (*ALDH2*1/*1*), 活性が低下するヘテロ接合体 (*ALDH2*1/*2*), 活性が欠損する変異型ホモ接合体 (*ALDH2*2/*2*) に分けられ, それぞれ 6137, 4782, 1010 名であった. 喘息既往のある対象者 (757 名) では女性が多く ($p = 0.01$), 年齢が低く ($p < 0.01$), *ALDH2*2* 保有が多い傾向 ($p = 0.11$) にあった. 喘息既往のオッズ比を, *ALDH2* 遺伝子型を説明変数, 年齢, 性別を共変数としたロジスティック回帰分析で推定したところ, *ALDH2*2* 保有によりオッズ比が高くなる傾向があり ($p \text{ trend} = 0.04$), *ALDH2*2/*2* 保有者のオッズ比 (95%信頼区間) は 1.32 (0.13 - 1.71) であった. 以上より, *ALDH2*2* が喘息のリスクであることが示唆された.

【会員外協力者】田中 恵太郎, 原 めぐみ, 松本 明子, 西田 裕一郎

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する.

PM3-22 Genetic mutation of aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) and Asthma

○Makino M, Yoshimoto RU, Gao WQ, Honda Y, Uchino K, Sawada T, Kido MA

Div Histol Neuroanat, Fac Med, Saga Univ

Aldehyde dehydrogenase 2 (*ALDH2*) detoxifies endogenous and exogenous aldehydes, and the gene polymorphism *rs671* has a prominent phenotype, which is exclusively highly prevalent in East Asia. *Rs671* is known to be protective for alcoholism, and to be risk for alcohol-induced malignancy. Almost no study has reported associations between *rs671* and allergic diseases so far, but the association is suspected because aldehyde may cause airway contraction. Using a database of a cohort study for general residents (40-69 years old), we examined the relationship between asthma history and *rs671*. Wild type homozygotes (*ALDH2*1/*1*, normal activity), heterozygotes (*ALDH2*1/*2*, decreased activity), and variant homozygotes (*ALDH2*2/*2*, activity-deficient) were found in 6137, 4782 and 1010 participants, respectively. Subjects with a history of asthma ($N = 757$) had higher rate of women ($p = 0.01$), younger age ($p < 0.01$), and tended to have more *ALDH2*2* allele ($p = 0.11$). The odds ratio of asthma history was estimated with *ALDH2* genotype as an explanatory variable, age and gender as covariates. We found that the odds ratio increased by *ALDH2*2* possession, and the odds ratio of *ALDH2*2/*2* was 1.32. These results suggest that *ALDH2*2* is a risk factor for asthma.

Collaborators: K. Tanaka, M. Hara, A. Matsumoto, Y. Nishida**Conflict of Interest:** The author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

PM3-23 ザイモザン誘導性免疫麻痺モデルにおける PD-1/PD-L1 経路の役割

○敖翔^{1,2}, 東みゆき¹, 永井重徳¹

¹医科歯科大 院医歯 分子免疫, ²医科歯科大 院医歯 歯髓生物

PM3-23 The role of PD-1/PD-L1 signaling in the zymosan-induced immune paralysis

○Ao X^{1,2}, Azuma M¹, Nagai S¹

¹Dept Mol Immunol, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ; ²Dept Pulp Biol Endodont, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ

Purpose: Immune paralysis, or the inability of the immune response to recover despite clearance of pathogens by antimicrobials, is a major cause of death in patients with sepsis. Fungi are capable of causing a wide range of diseases in humans and animals like the Candidemia, also induced immune paralysis. PD-1, a receptor for PD-L1, is an immune checkpoint molecule extensively applied as a target of therapy of cancer and chronic infection. However, the role of PD-1/PD-L1 signaling in fungi-induced immune paralysis is still unclear. In this study, we investigated the role of PD-1/PD-L1 signaling by zymosan (ZM)-induced immune paralysis model.

Materials & Method: We intraperitoneally injected ZM (2mg/mice) for five consecutive days. We examined each cell population in spleen by flow cytometry for three weeks. Three weeks after last injection, CD3⁺ T cells were isolated and stimulated in vitro for detection of proliferation and cytokine expression. CD11b⁺ cells were isolated for detection of gene expression and for adoptive transfer experiments. IL-6 production in sera were determined after LPS injection, which mimics the secondary bacterial infection.

Result: The ratio and amount of CD11b⁺ Gr-1⁺ cells and T cells were transiently increased in ZM-treated WT but recovered to the same level as PBS-treated wild type (WT) mice by three weeks. Splenic T cells from ZM-treated WT mice were impaired the proliferation and cytokine production but not from ZM-treated PD-1/PD-L1 double knockout (DKO) mice. IL-6 production by LPS injection was lower in ZM-treated WT mice than that in PBS-treated-WT mice. However, the inhibition of LPS-induced IL-6 production by ZM treatment was not observed in DKO mice. When we checked cytokine production by isolated CD11b⁺ cells in vitro, we found that the IL-6 expression was lower in ZM-treated WT mice than in PBS-treated WT mice. After we adoptively transferred splenic CD11b⁺ cells from ZM-treated WT mice into naive mice, IL-6 production in sera were also suppressed after LPS injection. However, transfer of CD11b⁺ cells from ZM-treated DKO mice did not show the suppressive effect.

Conclusion: These results suggest that the blockade of the PD-1/PD-L1 signaling ameliorated the immune paralysis.

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

PM3-24 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, 引地 尚子¹

¹九歯大 口腔保健学科, 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 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, Insulin 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 中で ATDC5 に Insulin 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) 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 DMEM/Ham's F-12+Insulin+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 および Alizarin red の染色性は著しく低下した. 今回の結果から, DMEM/Ham's F-12+Insulin+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. AA が Insulin の軟骨分化誘導能を増強することを想定し, Insulin 受容体の発現に対して AA が及ぼす影響に着目した検討を行っている.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

PM3-24 The roles of intracellular signals in chondrogenic differentiation of ATDC5 cell line

○Okita K^{1,2}, Ariyoshi W², Yoshioka Y², Yamasaki R², 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. chondrogenic differentiation was carried out by adding insulin and/or AA to DMEM/Ham's F-12 supplementation with 5% FBS. In addition to Alcian blue and Alizarin red staining, the expression of chondrogenic differentiation marker genes (Col2, Col10, Sox9, Aggrecan) was evaluated for chondrogenic differentiation. Phosphorylation of Akt and ERK proteins was assessed by Western blotting analysis. A strong enhancement of Alizarin red and Alcian blue staining was observed in the DMEM/Ham's F-12 + insulin + AA group. Similar tendency was observed for the expression of chondrogenic differentiation markers. As for signaling molecules, phosphorylation of Akt protein is enhanced in the early stage of chondrogenic differentiation, while ERK protein is suppressed from the early to late stage. In addition, under the culture condition of DMEM/Ham's F-12 + insulin + AA in the presence of Akt inhibitor (LY294002), the stainability of Alcian blue and Alizarin red decreased remarkably. From these results, a strong induction of chondrogenic differentiation was confirmed under the culture conditions of DMEM/Ham's F-12 + insulin + AA, and the activation of the Akt pathway is involved in this induction. The effects of AA on the expression of insulin receptors are currently under investigation.

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

PM3-25 タンパク分解系を介した TGF- β 1 による破骨細胞分化支持能の負の制御機構の解明

○Inoue Momoko^{1,2}, 川元 龍夫², 有吉 渉¹

¹九歯大 感染分子生物, ²九歯大 顎口腔機能矯正

TGF- β ファミリーの増殖因子である TGF- β 1 は矯正学的な歯の移動時に高発現し、歯の移動に伴う骨組織の改造への関与が示唆されている。本研究では、間質細胞への活性型ビタミン D 刺激により、誘導される破骨細胞形成支持能に対する TGF- β 1 の影響について明らかにすることを目的とした。マウスの間質細胞株 ST2 に対して、活性型ビタミン D とデキサメタゾン (Dex) および TGF- β 1 を添加し、RANKL の発現を real-time RT-qPCR およびウエスタンブロットティング法を用いて調べた。また、TGF- β type 1 /activin 受容体の選択的阻害剤 (A83-01) で前処理した際の RANKL 発現修飾能およびレチノイド受容体 (RXR) - α に及ぼす影響を調べた。さらに、プロテアソーム阻害剤 (MG132) での前処理および共免疫沈降法を用いて RXR- α のユビキチンプロテアソームシステムへの関与を調べた。TGF- β 1 の添加により、活性型ビタミン D および Dex により誘導される RANKL 発現が有意に抑制された。この RANKL 発現抑制作用は、A83-01 の前処理および smad2/3 のノックダウン実験により回復した。一方、RXR- α の発現レベルは、TGF- β 1 の添加により、mRNA の発現抑制を介さず、タンパクレベルで抑制された。この抑制は、MG132 の前処理により回復した。さらに、TGF- β 1 の添加により、RXR- α タンパクとユビキチンタンパクのユビキチン化が観察されたことから、RANKL 発現抑制作用は smad2/3 の活性化を介した RXR- α タンパクの分解に起因する可能性が示唆された。また、VDR の核内移行および STAT3 のリン酸化への影響はなかった。TGF- β 1 は、smad2/3 の活性化を介したユビキチンプロテアソームシステムによる RXR- α タンパクの分解により、活性型ビタミン D および Dex により誘導される破骨細胞分化支持能を負に制御する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PM3-25 Mechanisms involved in suppression of osteoclast supportive activity by TGF- β 1

○Inoue M^{1,2}, Kawamoto T², Ariyoshi W¹

¹Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ; ²Div Orofac Funct Orthodont, Kyushu Dent Univ

Previous studies suggested that high expression of TGF- β 1 on the compression and tension sides during orthodontic tooth movement may contribute to bone remodeling. The objectives of this study were to elucidate the effects of TGF- β 1 on the RANKL expression induced by 1,25(OH)₂D₃ in mouse-derived stromal cell. RANKL expression induced by 1,25(OH)₂D₃ and dexamethasone was significantly suppressed by the addition of TGF- β 1 in mRNA and protein level. This inhibitory effect of TGF- β 1 on RANKL expression was recovered by pre-treatment with A83-01, a selective inhibitor of TGF- β type1/activin receptor and knock down of smad2/3 by siRNA introduction. Although pre-treatment of TGF- β 1 has no effect on translocation of VDR induced by 1,25(OH)₂D₃ and dexamethasone, the expression of RXR- α protein was strongly inhibited by TGF- β 1 without affecting mRNA expression. Moreover, this suppression of RXR- α protein was recovered by pre-treatment with MG132 (proteasome inhibitor) as well as A83-01 and smad2/3 knock down and RXR- α was ubiquitinated by the addition of TGF- β 1. TGF- β 1 down-regulates RANKL expression induced by 1,25(OH)₂D₃ and dexamethasone via RXR- α protein degradation mediated by ubiquitin-proteasome system, followed by suppression of VDR/RXR- α complex formation which promotes RANKL transcription.

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

PM3-26 エリスロマイシンによる Del-1 誘導を介した骨代謝の制御

○田村 光^{1,2,3}, 前川 知樹^{1,2}, 土門 久哲^{1,2}, 日吉 巧^{1,3}, 前田 健康², 寺尾 豊^{1,2}

¹新潟大 院医歯 微生物, ²新潟大 院医歯 高度口腔機能教研セ, ³新潟大 院医歯 歯周診断・再建

【目的】 マクロライド系抗菌薬エリスロマイシンは、炎症組織における好中球の過度な集積や破骨細胞の分化を抑制すると報告されているが、その作用機序は未だ明らかになっていない。我々は、歯周組織に高発現する Del-1 が、歯周炎の進行とともに発現減少し、破骨細胞分化および骨吸収を引き起こすこと、および炎症寛解後の骨の再生を誘導するという知見を得た。本研究では、エリスロマイシンは、歯周組織へ Del-1 を誘導することで骨代謝を制御すると仮説を立て実験を行った。

【材料と方法】 野生型および Del-1 欠損マウスの第二臼歯を結紮した歯周炎モデルにおいて、エリスロマイシンを 1 日 1 回計 9 日間腹腔内投与し、歯槽骨吸収に対する効果を調べた。結紮から 9 日後に回収したマウス歯周組織サンプルから、破骨細胞関連遺伝子の発現量を測定し、さらに作製した骨標本ならびに組織凍結切片から、歯槽骨吸収量、Del-1 の局在、および破骨細胞数を解析した。また、マウス骨髄マクロファージから破骨細胞に分化させ、エリスロマイシンの破骨細胞の分化能ならびに骨吸収能に対する影響を調べた。さらに骨芽細胞における影響を、エリスロマイシン投与による骨ノジュール形成能の測定によって解析した。

【結果と考察】 野生型マウス歯周炎モデルにおいて、エリスロマイシン投与により、歯根膜近傍に局在する Del-1 発現の増加を認め、さらに歯槽骨吸収量および破骨細胞数が有意に減少した。また、エリスロマイシンの添加は、破骨細胞の分化能および骨吸収能を抑制し、さらに骨芽細胞の骨形成能を促進させた。一方で Del-1 欠損マウスにおいては、エリスロマイシンによる同様の効果は認められなかった。以上より、エリスロマイシンは Del-1 を誘導することで骨代謝を制御し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。

PM3-26 Erythromycin regulates bone metabolism at the site of inflammation through induction of Del-1

○Tamura H^{1,2,3}, Maekawa T^{1,2}, Domon H^{1,2}, Hiyoshi T^{1,3}, Maeda T², Terao Y^{1,2}

¹Div Microbiol Infect Dis, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ²Res Center Adv Oral Sci, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ³Div Periodontol, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ

Purpose: It was reported that macrolides suppress neutrophil accumulation in inflamed tissues and osteoclast differentiation. However, the underlying mechanism of their action remains unclear. Del-1 has currently emerged as an important factor in homeostatic immunity and osteoclastogenesis. Specifically, Del-1 is down-regulated in periodontitis tissues. Therefore, in the present study we investigated whether the anti-inflammatory effects of macrolides are mediated through upregulation of Del-1 expression.

Methods: The effect of erythromycin on inflammatory bone loss was examined using mice ligature-induced periodontitis model. The mice were injected intraperitoneal with the antibiotics once a day daily thereafter until the sacrifice day. 9 days after the ligation, we collected maxillary bone and measured alveolar bone level. In vitro, the effects of erythromycin on osteoclast differentiation and bone resorption were analyzed. Furthermore, the effect on osteoblasts was analyzed by measuring the ability of nodule formation.

Result & Conclusion: In the murine tooth ligating model, erythromycin treatment restrained bone loss. Furthermore, erythromycin-treated group, Del-1 was expressed and localized in periodontal ligament. In vitro, erythromycin down-regulated osteoclast differentiation and bone resorption. On the other hand, erythromycin promoted bone formation of osteoblast. In conclusion, erythromycin promotes the induction of Del-1, which could regulate bone metabolism and restrain inflammatory bone resorption.

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

PS-01 プロバイオティクス投与による歯周病の抑制機構の解明

○中村 麻衣^{1,2}, 梁 尚陽^{1,2}, 永尾 潤一^{2,3}, 田中 芳彦^{2,3}

¹福歯大 リサーチスチューデント, ²福歯大 感染生物, ³福歯大 口腔医学研究セ

歯周病は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。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、その中でサイトカイン IL-17A を産生する Th17 細胞が重要な役割を果たすことが明らかとなっている。実際に歯周病患者の歯周組織には、Th17 細胞が増加していることが報告されており、Th17 細胞が歯周組織の炎症や歯槽骨の吸収を誘導し、歯周病の病態を増悪化させる。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。近年、腸内細菌を含む腸内環境が、関節リウマチなどの様々な疾患の発症に関与することが報告され、腸管と全身の連関について注目されている。一方、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、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、*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析し、そのメカニズムを解明することを目的とする。本発表では、プロバイオティクスとして酪酸菌に着目し、*P. gingivalis* に対する Th17 細胞による免疫応答に及ぼす影響を解析した成果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。

PS-01 Inhibitory effect of probiotics on periodontal disease

○Nakamura M^{1,2}, Ryo N^{1,2}, Nagao J^{2,3}, Tanaka Y^{2,3}

¹Undergrad res student prog, Fukuoka Dent Coll; ²Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll; ³Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll

Periodontal disease is a leading cause of tooth loss that is associated with oral periodontal bacteria including *Porphyromonas gingivalis*. Mice model of experimental periodontitis suggests a pathogenic role of Th17 cells. 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 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 butyric acid bacteria as probiotic bacteria on *P. gingivalis*-induced periodontal disease.

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

PS-02 Candidalysin は IL-1 α 分泌を介して上皮細胞を活性化する○花岡 麻里子¹, 堂前 英資²¹大歯大 歯 5 年, ²大歯大 歯 生化

Candidalysin は 2016 年に同定された, *Candida albicans* が産生するペプチドトキシンである。Candidalysin はカンジダ症や全身性のカンジダ感染症発症に関与すると同時に, 感染局所の上皮細胞・自然免疫系を活性化することが明らかとなっている。Candidalysin による上皮細胞活性化機構として EGFR/c-fos を介したメカニズムが 2019 年に報告されたが, われわれは新たに IL-1 α /NF- κ B を介したメカニズムを見出したので報告する。培養ヒト口腔粘膜上皮細胞は Candidalysin に反応して 45 分以内に IL-1 α を放出し, 4 時間以内に IL-8 と GM-CSF を分泌した。また Candidalysin により, I κ B α のリン酸化が観察されたことから, NF- κ B の活性化が示唆された。Candidalysin で誘導される I κ B α のリン酸化及び IL-8 と GM-CSF の分泌は, IL-1R 中和抗体によって抑制された。したがって, IL-1R の下流で NF- κ B の活性化と GM-CSF, IL-8 の誘導が生じていると考えられた。次に, Candidalysin による上皮細胞の活性化に及ぼす, EGFR と IL-1R に対する中和抗体の影響を検討した。EGFR 中和抗体は c-fos 発現を抑制したが, I κ B α のリン酸化には影響しなかった。逆に IL-1R 中和抗体は I κ B α のリン酸化を抑制したが, c-fos 発現への影響は小さかった。抗 IL-1R 抗体と抗 EGFR 抗体を同時に用いたところ, Candidalysin によって誘導される IL-8 と GM-CSF の産生は, 中和抗体を単独で用いた場合よりも強力に抑制された。したがって, Candidalysin による口腔粘膜上皮細胞の活性化には, EGFR/c-fos 経路と IL-1 α /NF- κ B 経路が同時に働いていることが示唆された。本研究により, Candidalysin による口腔粘膜上皮細胞活性化機構として, 新たに IL-1 α /NF- κ B 経路の存在が明らかとなった。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。**PS-02 Candidalysin-induced early innate epithelial response via released IL-1 α** ○Hanaoka M¹, Domae E²¹Sch Dent, Osaka Dent Univ; ²Dept Biochem, Osaka Dent Univ

Candidalysin is a cytolytic peptide toxin produced by *Candida albicans* hyphae that is essential for mucosal tissue damage and is believed to contribute to the establishment of systemic infection and mortality when the host defense is compromised. Candidalysin is also required for the epithelial innate response in which proinflammatory cytokines and chemokines are produced and neutrophil recruitment is initiated. It was recently reported that epidermal growth factor receptor (EGFR) was essential for the candidalysin-triggered epithelial response, in which EGFR is activated by EGFR ligands by Ca²⁺ influx and matrix metalloproteinase-dependent activating mechanisms. The present study identified interleukin (IL)-1 α as another component of candidalysin-mediated initial epithelial activation. We found that human oral epithelial cells released IL-1 α immediately after candidalysin exposure. Blockade of IL-1 α /IL-1 receptor (IL-1R) signaling in candidalysin-exposed cells resulted in decreased phosphorylation of I κ B α , the inhibitory protein of nuclear factor kappa B (NF- κ B), and decreased production of granulocyte macrophage-colony stimulating factor and IL-8. Antibody inhibition of both EGFR and IL-1R enhanced the suppressive effect of cytokine production in candidalysin-treated cells. Thus, we identified the immediate release of IL-1 α and its synergistic role with EGFR ligands on the initial activation of oral epithelial cells in response to candidalysin.

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

PS-03 新規癌関連遺伝子のエナメル上皮腫における高発現とその機能解析

○石橋 拓馬¹, 藤井 慎介², 清島 保²

¹九大 歯 5年, ²九大 院歯 口腔病理

発表者らの研究室では、口腔領域の発生過程および腫瘍形成における低分子量 G タンパク質 ADP-ribosylation factor (ARF) -like 4c (Arl4c) の発現と機能解析を行っている。Arl4c は Wnt/ β -シグナルと EGF シグナルとの協調的な活性化により発現が誘導され、ヒト各種癌腫（舌癌、肺癌、大腸癌、肝癌）の腫瘍形成（細胞増殖及び細胞運動）を促進することが報告されている。発生過程において歯胚上皮は Arl4c を高発現しているが、歯原性上皮を発生母地とするエナメル上皮腫におけるその発現と機能は不明である。本研究では、ヒトエナメル上皮腫症例における Arl4c の発現と機能について解析することを目的とした。免疫組織化学的検索の結果、エナメル上皮腫症例において Arl4c は腫瘍細胞特異的に約 7 割の高頻度にて発現していた。また、検討した約半数の症例において、Arl4c の発現はエナメル上皮腫で認められる BRAF V600E 変異と共局在することを見出した。加えて、エナメル上皮腫細胞株 AM-1 は Arl4c を高発現しており、siRNA や特異的阻害剤を用いて機能抑制的な検討を行ったところ、Arl4c の高発現は Wnt/ β -シグナルや BRAF V600E 変異に依存していなかった。また、siRNA や CRISPR/Cas9 法を用いて Arl4c を機能抑制すると、その増殖能が抑制された。これらの結果から、エナメル上皮腫において、Arl4c は Wnt/ β -シグナルや BRAF V600E 変異以外のシグナル伝達により発現が誘導され、Arl4c の発現はエナメル上皮腫の腫瘍形成に必要であ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。

PS-03 Elevated expression and its functional analysis of novel cancer-related gene in ameloblastoma

○Ishibashi T¹, Fujii S², Kiyoshima T²

¹Sch Dent, Kyushu Univ; ²Sect Oral Pathol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

We currently examine the expression and function of ADP-ribosylation factor (ARF)-like 4c (Arl4c), which is a member of small GTP-binding superfamily, in the oral fields especially in tumorigenesis and morphogenesis. Arl4c expression is reportedly induced by a combination of Wnt/ β -catenin signaling and EGF/Ras signaling, and Arl4c overexpression, due to their signaling alterations, is involved in tumorigenesis, such as tongue cancers, lung cancers, colorectal cancers and hepatocellular carcinomas. However, its expression and function in ameloblastoma remain unclear. Here, we conducted to investigate the expression of Arl4c in human ameloblastoma tissue specimens and elucidate its function in ameloblastoma cell line (AM-1). Immunohistochemical analyses demonstrated that Arl4c was highly expressed in tumor cells with high frequency. In the half of the specimens, Arl4c was detected with the BRAF V600E mutation, which is highly observed in ameloblastoma. The experiments using siRNA and inhibitors revealed that Arl4c expression was not regulated by Wnt signaling nor the BRAF V600E mutation in ameloblastoma cell line. Arl4c-depleted AM-1 cells using siRNA or CRISPR/Cas9 system showed a decrease of cellular growth. These results suggest that Arl4c, the expression of which expression mechanism is unknown in ameloblastoma, is involved in tumorigenesis of ameloblastoma.

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

PS-04 老化促進モデルマウスの口腔内化学感覚についての行動解析○倉木 萌¹, 乾 千珠子², 阿部 真土², 脇坂 聡²¹阪大 歯, ²阪大 院歯 口腔解剖 1

加齢に伴って罹患率が上昇するアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患では不安様行動の増加など情動面での著しい変化がみられる。情動喚起刺激である味覚に対する好き嫌い（嗜好性）の異常を手がかりとして、これらの神経性疾患の早期発見つながる可能性がある。本研究では、老化による味覚嗜好性を分析する実験モデルを確立することを目指し、老化促進モデルマウス SAMP8 (senescence-accelerated mouse prone 8, n=6, 雄性) の味溶液摂取量を、48 時間二ビン選択法を用いて調べた。対照群には正常老化を示す SAMR1 (senescence-accelerated mouse resistant 1, n=6) を用いた。刺激に用いた溶液はショ糖 (2, 16, 32%), 塩酸キニーネ (0.01, 0.1, 1 mM), デナトニウム (0.01, 0.1, 1 mM), カプサイシン (0.1, 1, 10 uM), メントール (1, 10, 100 uM) であった。また、嗅覚機能を調べるため、餌探索テストを行った。老化が顕著に促進するとされる 33 週齢以降において、SAMP8 群の 2% ショ糖の選好率は SAMR1 群より有意に低かった ($p < 0.05$)。一方、0.01, 0.1 mM 塩酸キニーネ, 0.01 mM デナトニウム, 1 uM メントールに対する SAMP8 群の選好率は SAMR1 群より有意に高かった ($p < 0.05$)。餌探索テストでは群間差は認められなかった。以上の結果から、SAMP8 群では摂取性刺激に対する嗜好は低下し、反対に忌避性刺激に対する嗜好が上昇することがわかった。これらの変化は嗅覚機能の低下によるものではなかった。SAMP8 群の口腔内感覚機能の低下または情動変化の表出に異常がある可能性が考えられた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。**PS-04 Behavioral analysis of chemical sensation in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) and senescence-accelerated mouse resistant 1 (SAMR1)**○Kuraki M¹, Inui-Yamamoto C², Abe M², Wakisaka S²¹Sch Dent, Osaka Univ; ²Dept Oral Anat Dev Biol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Age-related neurodegenerative diseases such as Alzheimer's and Parkinson's diseases increase emotional dysfunctions, suggesting that these diseases can be detected in an early stage by changes in hedonics (an emotional component of taste). Here, to establish an experimental model of the age-related alteration in hedonics, we analyzed the behavioral changes against chemical stimuli of SAMP8 (senescence-accelerated mouse prone 8, n=6) using a 48h two-bottle preference test. As a control, age-matched SAMR1 (senescence-accelerated mouse 1, n=6) male mice were used. They were given with either of sucrose (2, 16, 32%), quinine hydrochloride (0.01, 0.1, 1 mM), denatonium (0.01, 0.1, 1 mM), capsaicin (0.1, 1, 10 uM), or menthol (1, 10, 100 uM). We also examined the olfactory function in the buried food test. After 33 weeks of age, SAMP8 showed significantly higher preference ratio for 2% sucrose and lower ones for 0.01, 0.1 mM quinine hydrochloride, 0.01 mM denatonium, and 1 uM menthol. There was no significant difference between SAMP8 and SAMR1 in the buried food test. SAMP8 decreased the preference for ingestive stimuli while increasing the preference for repellent stimuli without altering olfactory function. These results suggest that the SAMP8 group had abnormal chemical sensation and emotional functions.

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

PS-05 軸索ガイダンス因子 Sema3a による唾液腺発生制御メカニズムの解明○藤本 龍史^{1,2}, 藤井 慎介², 清島 保²¹九大 歯, ²九大 院歯 臨床口腔病理

最近, 発表者らの研究室では, Wnt/ β -カテニンシグナルの活性化によって軸索ガイダンス因子 Semaphorin3a (Sema3a) の発現が抑制されること, そして, その下流シグナルが歯胚上皮の増殖を介して歯胚発生を制御する分子基盤について明らかにした (Sci Rep. 2019). 一方, 発生過程において, 歯胚と唾液腺は共通する分子基盤を有していることが知られているが, Sema3a シグナルが唾液腺の発生に与える影響は不明である. そこで, 本研究では唾液腺の発生における Sema3a シグナルの役割を明らかにすることを目的とした. マウス胎生 13 日目の顎下腺を摘出し, in vitro にて器官培養をしたところ, 時間経過と共に形態形成が促進 (腺房数, 上皮細胞数, 顎下腺の総面積の増加および分化マーカー遺伝子の変化) した. この培養系にて Wnt/ β -シグナルが Sema3a の発現に与える影響について検討したところ, CHIR99021 (GSK3 β 阻害剤) の濃度依存的に Wnt/ β -シグナルが活性化し, Sema3a の発現が抑制された. 次に, 免疫組織化学的手法を用いて検討したところ, 唾液腺上皮組織特異的に Sema3a が発現していた. また, マウス顎下腺器官培養法において特異的阻害剤を用いて Sema3a の機能を抑制すると, 顎下腺の断面積, 腺房数, 増殖細胞数および AKT のリン酸化が抑制された. 加えて, AKT リン酸化阻害剤は唾液腺の発生を抑制した. 本研究の結果より, 唾液腺の発生過程において Wnt/ β -シグナルが Sema3a の発現を制御すること, および Sema3a-AKT を介した増殖制御メカニズムが唾液腺の形態形成に必要であることが明らかとなった.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.**PS-05 Functional analysis of Semaphorin3a signaling, which is an axonal guidance factor, in salivary gland development**○Fujimoto T^{1,2}, Fujii S², Kiyoshima T²¹Sch Dent, Kyushu Univ; ²Div Oral Med Pathol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ

Recently, we demonstrated that Wnt/ β signaling negatively regulated cellular growth through reduced Semaphorin3a (Sema3a) expression in odontogenic epithelial cells and its involvement in tooth germ development. Although the developmental process may share the same mechanisms in tooth germ and salivary gland, the effect of Sema3a signaling on salivary gland development remains unclear. Here, we conducted to investigate the function of Sema3a signaling in salivary gland development. We developed the salivary gland organ culture system derived from a murine submandibular salivary gland (SMG) rudiment at embryonic day 13. In the model, normal tempo-spatial development, which is similar to in vivo situations, was confirmed. The treatment with CHIR99021, a GSK3 β inhibitor, activated Wnt/ β signaling but decreased Sema3a expression in the SMG rudiment culture. Immunohistochemical analyses demonstrated that Sema3a was highly expressed in the salivary gland epithelial cells. Loss-of-function experiments with a Sema3a inhibitor showed the decrease of total epithelial area, the numbers of buds and proliferating cells, and AKT activation. In addition, an AKT activation inhibitor negatively regulated SMG development. These results suggest that Wnt/ β signaling reduces Sema3a expression and the Sema3a-AKT axis promotes epithelial cell proliferation to regulate salivary gland development.

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

PS-06 マウス下顎骨切歯エナメル器における CD44 と endomucin 陽性血管の局在について

○越石 麟, 本郷 裕美, 網塚 憲生, 長谷川 智香

北大 院歯 硬組織発生

【目的】 マウス切歯のエナメル器では, エナメル芽細胞や中間層・乳頭層の細胞がダイナミックに形態変化するが, それに関して血管はエナメル器の細胞機能に重要な役割を果たしていると思われる。そこで我々は, マウス下顎切歯のエナメル器における endomucin 陽性血管の分布を, 血管の管腔形成に関与する CD44 と比較のもと組織化学的に検索した。

【材料と方法】 生後 5 週齢 C57BL/6J マウスを 4%パラホルムアルデヒド溶液にて灌流固定し, 下顎切歯およびその周囲組織を摘出した。その後, 通法にてパラフィン切片を作製し, HE 染色, CD44 と endomucin 免疫染色を行った。

【結果と考察】 マウス下顎切歯矢状断で観察したエナメル質形成期では, 外エナメル上皮内で一定の間隔をあけながら, やや小さな管腔径を有する endomucin 陽性血管が観察された。CD44 陽性反応はエナメル芽細胞の近位端に観察されたが, 中間層の細胞, 星状網, 外エナメル上皮には CD44 陽性は認められなかった。また, エナメル質成熟期では, 乳頭層内にほぼ一定の間隔をあけて, 管腔径のやや大きな円形の endomucin 陽性血管が分布していた。加えて, エナメル芽細胞よりも乳頭層の細胞が CD44 強陽性反応を示した。

このように, エナメル質形成期では CD44 陽性を示さない外エナメル上皮内に endomucin 陽性血管が局在したのに対して, エナメル質成熟期では CD44 陽性を示す乳頭層内に endomucin 陽性血管が入り込み比較的大きな管腔径を呈していたことは, エナメル質成熟期の乳頭層における CD44 と endomucin 陽性血管との関連性を示唆しているものと考えられる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PS-06 Immunolocalization of endomucin-reactive blood vessels and CD44 in enamel organs of murine mandibular incisors

○Koshiishi R, Hongo H, Amizuka N, Hasegawa T

Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Introduction: Blood vessels appear to play a pivotal role in the dynamic histological change of enamel organs during ameloblast differentiation. In this study, we have examined the immunolocalization of endomucin-reactive blood vessels in comparison with CD44, which may be involved in vascular maintenance, in enamel organs of murine mandibular incisors.

Materials and Methods: Five weeks-old C57BL/6j mice were fixed with 4% paraformaldehyde solution, and the mandibles were extracted and decalcified prior to being embedded in paraffin for immunohistochemical analyses of CD44 and endomucin.

Results and Discussion: When observing sagittal section of mandibular incisors, in the secretory stage of ameloblasts, endomucin-immunopositive small blood vessels were evenly localized with a certain interval in the outer enamel epithelium. CD44 immunoreactivity was seen in the proximal region of the secretory stage of ameloblasts, but hardly detected in the stratum intermedium, stellate reticulum nor outer enamel epithelium. In the maturation stage of ameloblast, endomucin-positive round and large blood vessels were evenly localized inside the papillary layer. CD44 immunoreactivity was seen intensely in the papillary layer compared with the maturation stage of ameloblasts. Thus, there seems interplay between endomucin-reactive blood vessels and the papillary layer intensely positive for CD44.

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

PS-07 口腔内細菌叢解析システム：PCR-RFLP 法によるプロファイリング

○河内 美帆¹, 丸山 伸吾¹, 枘田 菜々子¹, 佐野 拓人^{2,3}, 涌井 杏奈², 八巻 恵子⁴,
鷺尾 純平⁴, 高橋 信博⁴, 佐藤 拓一²

¹新潟大 医 保 臨床化学, ²新潟大 医 保 臨床化学, ³日歯大 新潟生命歯 病理, ⁴東北大 院歯 口腔生

【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、口腔内疾患（齲蝕や歯周炎等）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（唾液サンプルを用いたプロファイリング等）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 (*Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Campylobacter*, *Cutibacterium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Gemella*, *Neisseria*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, *Rothia*, *Schaalia*, *Streptococcus*, *Veillonella* 等) 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】 著者は利益相反がないことを宣言する。

PS-07 Oral microbiota analyzing system: Profiling by PCR-RFLP method

○Kawachi M¹, Maruyama S¹, Masuda N¹, Sano H^{2,3}, Wakui A², Yamaki K⁴, Washio J⁴, Takahashi N⁴, Sato T²

¹Div Clin Chem, Sch Health Sci, Niigata Univ; ²Div Clin Chem, Sch Health Sci, Niigata Univ; ³Dept Pathol, Nippon Dent Univ Niigata; ⁴Div 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 *Actinomyces*, *Streptococcus*, *Schaalia* 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 author declares no conflict of interest associated with this manuscript.

PS-08 歯周病原細菌に対する増殖阻害活性を示すヒト口腔内常在細菌のスクリーニングと解析

○池本 梨央南^{1,2}, 中村 麻衣^{1,2}, 永尾 潤一^{2,3}, 有田 (森岡) 健一^{2,3}, 田中 芳彦^{2,3}

¹福歯大 リサーチスチューデント, ²福歯大 感染生物, ³福歯大 口腔医学研究セ

近年, 歯周病などの口腔疾患が, 糖尿病や誤嚥性肺炎などの全身の疾患に関連することが示され, 口腔ケアが注目されている. 口腔内のデンタルプラークには多種多様な微生物が常在し, 口腔微生物叢が形成されている. 口腔微生物叢の中では細菌間で様々な共生や拮抗の関係が形成されていると考えられている. 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微生物叢のバランスが崩れることで歯周病などの口腔疾患を発症すると考えられている. 口腔内の細菌間の拮抗現象として, ある種の細菌が産生する抗菌因子が考えられる. 抗菌因子を産生する細菌は, 口腔微生物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る. 我々は, 健康人の口腔微生物叢には, 歯周病原細菌の増殖を抑制する細菌が存在し, 健康な口腔微生物叢のバランスが維持されているのではないかと仮説を立てた. 本研究の目的は, 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を解析することである. 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スクリーニングを行ってきた. 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, 単離した細菌のグラム染色性や 16S rRNA 解析などの特性および産生する抗菌因子の解析に関して得られた結果を示したい.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

PS-08 Screening and analysis of human oral bacteria that inhibits growth of periodontal pathogenic bacteria *Porphyromonas gingivalis*

○Ikemoto R^{1,2}, Nakamura M^{1,2}, Nagao J^{2,3}, Arita-Morioka K^{2,3}, Tanaka Y^{2,3}

¹Undergrad res student prog, Fukuoka Dent Coll; ²Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll; ³Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll

The human oral cavity consists of several bacterial species and it has well-balanced microbiota. However, dysbiosis of the oral microbiota triggers the inflammatory disease periodontitis at the gingiva. 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. In this study, we have screened candidate bacteria derived from dental plaque of healthy human to inhibit the growth of periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. We have successfully found some bacteria that inhibit the growth of *P. gingivalis*. We further characterized the isolated bacteria and also the produced antimicrobial substances.

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

PS-09 フキの葉抽出物成分によるアンチエイジング効果の検討

○櫻井 菜緒美, 渋谷 史織, 齊藤 魁星, 川崎 博生, 高田 鮎子, 荒川 俊哉

北医療大 歯 生化

【目的】 フキは日本原産の植物で、フキの葉柄部位は古くから山菜として利用されてきた。またフキには多くのポリフェノールやアルカロイドが含まれており、古くから薬用植物としても使われてきた。また近年、その抽出物は美容製品や健康食品として利用されている。ポリフェノールは代表的な抗酸化成分として利用され、アンチエイジング効果も模索されている。そこで本研究では、フキの採取時に廃棄されているフキの葉を再利用して、その抽出物のアンチエイジング効果を検討することを目的とする。

【方法】 エイジング（老化）は、細胞の分裂増殖能を喪失する現象であり、活性酸素種（ROS）などにより誘導される。また最近の研究においては、老化した細胞は炎症性サイトカインや細胞外マトリックス分解酵素などを分泌する SASP（senescence-associated secretary phenotypes）と呼ばれる現象を引き起こし、それが蓄積されると細胞の恒常性が破壊され更に老化を引き起こす。そこでアンチエイジング効果の検討のために、歯肉上皮細胞である Ca9-22 細胞を用いて、フキの葉抽出物の ROS と SASP に対する効果の検討を行った。

【結果】 Ca9-22 細胞において、E. coli LPS を添加すると ROS の一つである一酸化窒素 (NO) が誘導され、同時に炎症性サイトカイン群が発現することを明らかになった。またこの誘導時にフキの葉抽出物を添加すると、NO の産生および炎症性サイトカインの TNF α mRNA の発現が濃度依存的に抑制されることが明らかになった。

【考察】 フキの葉抽出物は老化を誘導すると考えられている ROS と SASP を共に抑制する効果を持つことが明らかとなり、したがって、フキの葉抽出成分は、老化を抑制するアンチエイジング効果をもつ可能性があ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。

PS-09 Analysis of anti-aging effects by the Japanese butterbur leaf extracts

○Sakurai N, Shibutani S, Saito K, Kawasaki H, Takada A, Arakawa T

Div Biochem, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Objective: A butterbur is a wild plant and has been eaten as a natural food since ancient times. A Japanese butterbur includes polyphenols and is also utilized as a cosmetics and healthy food. In this study, we analyze an anti-aging effect using the butterbur leaf extracts including the polyphenols. **Methods:** An aging is a phenomenon caused by a loss of function in the cell division treated with reactive oxygen species (ROS). At the same time, an aging prompts another phenomenon such as senescence-associated secretary phenotypes (SASP) which induces inflammatory cytokines and matrix metalloproteases. We analyzed anti-aging effects against ROS and SASP by butterbur leaf extracts in Ca9-22 oral epithelial cells. **Results:** The butterbur leaf extracts inhibited the nitric oxide (NO) production for ROS and tumor necrosis factor (TNF) α mRNA expression for SASP induced by E. coli lipopolysaccharide in a dose dependent manner. **Discussion:** The butterbur leaf extracts had an inhibitory effect of NO and TNF α expressions which induced an aging phenomenon, thus, it might have an anti-aging effect to prevent ROS and SASP phenotype.

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

PS-10 LUCID を使った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, 島谷 真梨², 吉田 光希³, 安彦 善裕³, 谷村 明彦⁴

¹北医療大 歯 6年, ²北医療大 歯 組織再建口外, ³北医療大 歯 臨床口腔病理, ⁴北医療大 歯 薬理

近年, 様々な組織透明化試薬を使った組織の立体構造の解析が注目されている. これらの方法で透明化した組織を共焦点レーザー顕微鏡で可視化することによって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. 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. 我々は, 透明化試薬に熱処理あるいは超音波処理を加えることによって, 10分以内に組織を透明化して可視化する技術を開発した. この方法を使ったがん浸潤の術中迅速病理診断や抗がん薬の in vivo テストへの応用の可能性を発表する. ホルマリン固定した組織を Actin-Red 染色し, 透明化液に浸漬し 1-10 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した. これらの方法で透明化した組織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. さらに組織が持つ自家蛍光を利用して, 透明化した無染色組織の共焦点レーザー顕微鏡観察で立体構造を可視化した. これらの方法を利用して, HeLa 細胞を移植した BALB/cSlc-nu/nu (ヌードマウス) のがん組織を切り出して可視化することに成功した. この方法を使うことで, がんの術中迅速診断が可能になると考えられる. さらにこの超短時間組織透明化法を抗腫瘍薬の in vivo 解析への利用を試みた. この実験では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 細胞をヌードマウスに移植して, 発生したがん組織を透明化し, 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, 透明化した組織のがんの細胞周期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】 著者は利益相反がないことを宣言する.

PS-10 Ultra short-time method for tissue clearing and its application to cancer diagnosis and drug development

○Kanakubo C¹, Yokoyama M¹, Shimatani M², Yoshida K³, Abiko Y³, Tanimura A⁴

¹6th year undergraduate, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ²Div Reconstructive Surg Oral Maxillofac Reg, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ³Div Oral Med Pathol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ⁴Div Pharmacol, 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. Conventional protocols 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 10 minutes. CLSM confirmed no detectable damage on the sonicated- or heated-tissues. We also found that autofluorescence enables to visualize three-dimensional structures of these tissues without staining. Using these methods, we succeeded in visualizing cancer tissues in HeLa cells transplanted-mice (immunodeficient mice; BALB/cSlc-nu/nu) after the dissection of cancer and surrounding tissues. In addition, we developed the human tongue cancer cell line expressing cell-cycle sensor protein (SAS-Fucci cells), and transplanted into immunodeficient mice. We visualized the cancer and surrounding tissues with the 'rapid tissue-clearing method', and succeeded in detecting the fluorescence of SAS-Fucci cells. These results indicate possible application of the rapid tissue-clearing method for the intraoperative diagnosis of an invasive cancers and for in vivo screening of anti-tumor agents.

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

The 62nd Annual Meeting of
Japanese Association for Oral Biology
September 11 – October 9, 2020
Online Meeting



JAOB JAPANESE ASSOCIATION FOR
ORAL BIOLOGY since 1959

Special lecture accorded by the LOTTE Foundation 1

SL1 Modulators of Phosphate/Pyrophosphate play major roles during formation and regeneration of the periodontal complex

○Martha J. Somerman
(NIDCR, NIH/NIAMS, NIH Lab Oral Connect Tissue Biol)

Special lecture accorded by the LOTTE Foundation 2

SL2 How expert intuitive thinking works: studies of shogi and soccer experts

○Tanaka K
(Ctr Brain Sci, RIKEN)

Special Lecture / Public Lecture

**PL Viral infections and their chemotherapeutic agents
- From new coronavirus infection to AIDS -**

○Baba M
(Div Antiviral Chemotherapy, Joint Res Ctr Human Retrovirus Infect, Kagoshima Univ)

JAOB Rising Members Award Winners Lecture

JR-1 Monocarboxylate transporter-1 promotes osteoblast differentiation via suppression of p53, a negative regulator of osteoblast differentiation

○Sasa K, Yoshimura K, Miyamoto Y, Kamijo R
(Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent)

JR-2 Activation of 5-HT_{2A} receptor enhances function of GluN2A-containing NMDA receptor via Src kinase in dendrites of rat jaw-closing motoneurons

○Dantsuji M, Nakamura S, Nakamura K, Mochizuki A, Inoue T
(Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent)

JR-3 Three-dimensional ultrastructure of osteocytes assessed by focused ion beam-scanning electron microscopy (FIB-SEM).

○Hasegawa T
(Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)

JR-4 Origin and development of septoclasts in endochondral ossification of mice

○Bando Y
(Div Anat, Meikai Univ Sch Dent)

JR-5 Role of glucagon-like peptide-1 receptor signaling in osteocalcin-mediated improvement of whole-body metabolism

○Mizokami A
(OBT Res Ctr, Kyushu Univ Grad Sch Dent)

Main Symposium 1

MS1-1 Regulatory mechanisms of taste bud cell differentiation

○Miura H, Koyanagi E, Harada S
(Dept Oral Physiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)

MS1-2 The new experimental approach to understand the mechanism for taste cell differentiation/proliferation with using 3-D organoid culture

○Takai S¹, Watanabe Y^{1,2}, Margolskee RF³, Jiang P³, Ninomiya Y^{3,4}, Shigemura N^{1,4}
(¹ Sect Oral Neurosci; ² Sect Implant Rehabil Dent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ³ Monell Chem Sense Ctr; ⁴ R & D Ctr Five-Sense Dev, Kyushu Univ)

MS1-3 Taste of fatty acids: functional analysis of fatty acid sensors in mice

○Yasumatsu K
(Tokyo Dent Junior Coll.)

MS1-4 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; ²Dept App Bio Chem, Grad Sch Agri Life Sci Univ Tokyo)

Main Symposium 2

MS2-1 Bidirectional interactions between obesity/diabetes and Alzheimer's disease

○Sato N
(Dept Aging Neurobiol, Dev Adv Med Dementia, NCGG)

MS2-2 Deciphering the etiology of Alzheimer's disease from the mouth

○Matsushita K, Furukawa M, Kurosawa M, Shikama Y
(Dept Oral Dis Res, NCGG)

MS2-3 Neurodegeneration of the Trigeminal Nerve and Alzheimer's Disease - a mechanism by which tooth loss accelerates the progression of Alzheimer's disease -

○Goto T
(Dept Anat Oral Sci, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)

Main Symposium 3

MS3-1 Development of tooth regenerative medicine by controlling of the number of teeth.

○Takahashi K
(Dept Oral Maxillofac Surg, Kyoto Univ Grad Sch Med)

MS3-2 Generation of three-dimensional salivary glands and their application.

○Mishima K
(Div Oral Pathol, Showa Univ Sch Dent)

MS3-3 Expression of protocadherin-20 in mouse taste buds

Hirose F^{1,2}, Takai S¹, Takahashi I², ○Shigemura N^{1,3}
(¹Sect Oral Neurosci; ²Sect Orthodont Dentofac Orthoped, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ³R & D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ)

Main Symposium 4

MS4-1 Relationship between ingested oral microbiota and health status

○Takeshita T
(Sect Prevent Dent Pub Health, Kyushu Univ Grad Sch Dent)

MS4-2 Shedding light on the function of commensal microbiota in health and disease

○Fukuda S¹⁻⁴
(¹Inst Adv Biosci, Keio Univ; ²KISTEC-KAST; ³Univ of Tsukuba Sch Med; ⁴Metabologenomics Inc)

MS4-3 Elucidation of mechanism underlying streptococcal infection exacerbation for development of preventive and therapeutic strategies

○Sumitomo T
(Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)

Main Symposium 5

MS5-1 Lysosomal trafficking involved in allergic responses

○Kadowaki T¹, Yamaguchi Y², Tsukuba T²
(¹Dept Front Oral Sci; ²Dept Dent Pharmacol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)

MS5-2 The inhibitory role of Rab11 in osteoclastogenesis

○Okamoto K¹, Tran TM¹, Wei P¹, Feng Y¹, Okusha Y^{1,2}
(¹Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci; ²Div. Mol. Cell. Biol., Harvard Med Sch)

MS5-3 Metabolic bone diseases and drug repositioning researches

○Iimura T
(Dept Pharmacol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)

Innovation Roadmap Symposium

IRS-1 Real time monitoring for early detection of oral cancer carcinogenesis and metastasis: From clinical insight

○Sugiura T
(Dept Maxillofac Diag Surg Sci, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)

IRS-2 Alteration of blood vessels during the tongue cancer development in 4NQO-induced mouse carcinogenesis model

○Usami Y¹, Shirogane Y^{1,2}, Hirose K¹, Sato S¹, Toyosawa S¹
(¹Dept Oral Pathol; ²Dept Prosthodont Gerodont, Osaka Univ Grad Sch Dent)

IRS-3 Clarification of novel molecular mechanism in cell proliferation and transdifferentiation of oral squamous cell carcinoma

○Fujii S, Kiyoshima T
(Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent)

IRS-4 Pathology of HPV-related Head and Neck Cancer

○Yamamoto H
(Dept Pathol, Kyushu Univ Hosp)

Joint Symposium with The Japanese Society for Dental Materials and Devices

DS-1 The cellular and molecular mechanism of bone regeneration

○Jimi K
(OBT Res Ctr, Kyushu Univ Grad Sch Dent)

DS-2 Bone regeneration treatment using carbonate apatite artificial bone

○Ishikawa K
(Sect Biomater, Kyushu Univ Grad Sch Dent)

DS-3 Re-evaluation of bone mineralization by perspective of materials science, and its application for new bone synthesis method

○Matsumoto T
(Dept Biomater, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)

Joint Symposium with Japanese Society for Bone Morphometry

BS-1 Application of bone morphometry to jawbone research

○Ejiri S
(Joint Res Lab, Asahi Univ)

BS-2 Clinical significance of bone histomorphometry

○Yamamoto N^{1,2}, Shimakura T^{1,2}, Takahashi H^{1,2}
(¹Niigata Bone Sci Inst; ²Dept Orthop Surg, Niigata Rehabil Hosp)

BS-3 Advances in signal-transduction research starting from bone histomorphometry

○Aoki K¹, Ikebuchi Y², Khan M¹, Sugamori Y³, Tamura Y⁴, Honma M²
(¹Dept Basic Oral Health Eng, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci; ²Dept Pharmacy, Univ Tokyo Hosp; ³Dept Chem Grad Sch Science, Univ Tokyo; ⁴Dept Pharmacol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)

BS-4 Pathology and histology in antiresorptive agent-related osteonecrosis of the jaw

○Kuroshima S, Sasaki M, Nakajima K, Sawase T
(Dept Appl Prosthodont, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)

BS-5 Evaluation of calcified tissue analyzed by orientation degree of bone matrix (collagen / apatite) as an index of bone quality

○Nakano T
(Area Biomater, Osaka Univ Grad Sch Engn)

BS-6 The importance of understanding the bone dynamics in basic research - Thinking of the effects of anti-osteoporosis drugs on bone metabolism -

○Tanaka S
(Dept Orthopaed Surg, Saitama Med Univ)

Symposium Cooperated by Science Council of Japan

CS-1 Synapse elimination in the developing cerebellum; Its possible relationship to mastication and swallowing.

○Uesaka N
(Dept Cognitive Neurobiol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)

CS-2 Neural basis of mastication: jaw movement regulation by local brainstem circuits

○Nakamura S
(Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent)

CS-3 Revisit of the regulatory mechanisms of brain functions by mastication from the viewpoint of locomoscience

○Ono T^{1,2}
(¹Dept Cell Signal, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci; ²AMED-CREST program)

Symposium cooperated by Network for International Education and Research in Advanced Dental Sciences

AD-1 Amelioration of cell number and metabolic features of adipocytes by osteocalcin

○Otani T¹, Matsuda M², Mizokami A³, Kitagawa N¹, Jimi E^{2,3}, Inai T¹, Hirata M⁴
(¹Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll; ²Sect Mol Cell Biochem; ³OBT Res Ctr, Kyushu Univ Grad Sch Dent; ⁴Oral Med Res Ctr, Fukuoka Dent Coll)

AD-2 Identification of the molecular mechanism of carcinogenesis and progression in oral cancer through multidirectional approach

○Tsunematsu T, Kudo Y, Ishimaru N
(Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)

AD-3 Elucidation of anti-inflammatory and bone regeneration mechanism induced by homeostatic protein DEL-1

○Maekawa T
(Res Ctr Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)

AD-4 Past, Present and Future of the Network for International Education and Research in Advanced Dental Sciences

○Yamaguchi A
(Oral Health Sci Ctr, Tokyo Dent Coll)

Educational seminar (in cooperation with Elsevier Japan)

ES How to appeal own research results effectively and give an impressive presentation

○Ohshima H^{1,2}
(¹Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci; ²Vice EIC of J Oral Biosci)

Update Symposium 1

US1-1 The development of bone anabolic reagent targeting on membrane-bound RANKL molecules

○Aoki K¹, Shimizu Y^{1,2}, Lu W³, Hirohashi Y¹, Sone E⁴, Ikebuchi Y², Khan M¹, Fatma Rashed¹, Tamura Y⁵, Sugamori Y⁶, Terasaka N³, Udagawa N⁷, Yoda T⁴, Honma M², Suga H³
(¹Dept Basic Oral Health Eng, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch; ²Dept Pharmacy, Univ Tokyo Hosp; ³Dept Chem Grad Sch Science Univ Tokyo; ⁴Dept Oral Maxillofac Surg; ⁵Dept Pharmacol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch; ⁶Dept Oral Surg, Saitama Med Univ Hosp; ⁷Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ)

US1-2 Osteoprotegerin-dependent M cell self-regulation balances gut infection and immunity

○Kimura S, Nakamura Y, Hase K
(Div Biochem, Fac Pharma, Keio Univ)

US1-3 Osteoprotegerin: a possible protective factor for cardiovascular system

○Tsuruda T¹, Koide M², Nakamichi Y², Nakamura M³, Udagawa N³, Kitamura K¹
(¹Dept Int Med, Circul Body Fluid Reg, Facult Med, Miyazaki Univ; ²Inst Oral Sci; ³Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ)

US1-4 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
(¹Specialty Med Res Lab 1, Daiichi Sankyo Co, Ltd; ²Div Hard Tissue Res Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ; ³Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ⁴Dept Orthop Surg, Hokkaido Univ Grad Sch Med)

Update Symposium 2

US2-1 Investigating the etiology of rare undiagnosed diseases with craniofacial deformities

○Kurosaka H
(Dept Orthodont Dentfac Orthoped, Osaka Univ Grad Sch Dent)

US2-2 A neurocristopathy dataset identifies novel genetic links to syndromic craniofacial and cardiac anomalies

Alharatani R^{1,2*}, Beleza-Meireles A^{1,5*}, Ji W³, Konstantino M³, Liu A¹, Khokha M⁴, Lakhani SA³, Hosey MT², Liu KJ¹
(¹Ctr Craniofac Regen Biol, King's Coll London; ²Paed Dent, Ctr Oral, Clin Transl Sci, King's Coll London; ³Ped Genom Disc Program, Dept Pediat, Yale Univ Sch Med; ⁴Pediat Genom Discovery Program, Dept Genet Pediat, Yale Univ Sch Med; ⁵Clin Genet Dept, Guy's St. Thomas' NHS Found Trust (*These authors contributed equally.))

US2-3 *Dlx5*-augmentation in neural crest cells reveals early development and differentiation potential of mouse apical head mesenchyme

Tri Vu Hoang TV¹, Takechi M¹, Shimizu M², Kitazawa T², Higashiyama H², Iwase A², Kurihara H²,
○Iseki S¹

(¹Sect Mol Craniofac Embryol, Grad Sch Med Dent Sci, Tokyo Med Dent Univ; ²Dept Physiol Chem Metabol, Grad Sch Med, Univ Tokyo)

Update Symposium 3

US3-1 Consideration of partial and double internal jugular veins

○Uemura M¹, Toda I¹, Kawashima W¹, Sumi Y², Matsumoto S¹, Suwa F¹
(¹Dept Anat; ²Grad Sch Anat, Osaka Dent Univ)

US3-2 Anatomical study of the lingual nerve

○Shimotakahara R, Mine K, Tamatsu Y
(Dept Gross Anat Forensic Dent, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)

US3-3 Newly findings of the lingual nerve using nerve fiber analysis

○Kojiro T, Ikuo K
(Dept Anat 1st, Sch Life Dent at Niigata, Nippon Dent Univ)

US3-4 A reconsideration of the course of chorda tympani in the temporal bone

○Sonomura T¹, Kanou T¹, Iwata T², Katsumata A²
(¹Div Anat; ²Div Oral Maxillofac Radiol, Asahi Univ Sch Dent)

Update Symposium 4

US4-1 Possibility to the salivary gland regeneration based on the developmental process

○Minagi-Ono H^{1,2}, Usami Y³, Sakai M⁴, Ohuchi H¹, Sakai T⁵
(¹Dept Cyto Hist, Pharm Sci, Okayama Univ Grad Sch Med Dent; ²JSPS Res Fellow; ³Dept Oral Pathol; ⁴Clin Labo; ⁵Dept Oral-Facial Disord, Osaka Univ Grad Sch Dent)

US4-2 Search for salivary gland function enhancing factor

○Yokoyama M, Katsumata-Kato O, Fujita-Yoshigaki J
(Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo)

US4-3 Effects of trypsin inhibition on endocrine and exocrine secretions in rat pancreas

○Morita A¹, Ouchi M¹, Satoh K^{2,3}, Fujita T¹
(¹Dept Pharmacol, Dokkyo Med Univ Sch Med; ²Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent; ³Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent)

US4-4 Lacrimal hyosecretion-related factor revealed by transcriptome analysis.

○Ohno Y¹, Satoh K², Shitara A¹, Kashimata M¹
(¹Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent; ²Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent)

US4-5 Functional food materials for prevention of lacrimal hyosecretion – Potential effect of blueberry leaves

○Ogawa K¹, Ohno Y², Yamada T³, Maeda S³, Satoh K⁴, Kashimata M²
(¹Agric Food Sci, Miyazaki Univ Tenure track; ²Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent; ³Dept Biochem Applied Biosci, Miyazaki Univ Fac Agric; ⁴Dept Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent)

Update Symposium 5

US5-1 Craniofacial morphogenesis by Sonic hedgehog and its downstream targets

○Takechi M

(Dept Mol Craniofac Embryol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)

US5-2 The role of bone matrix miR-125b in the bone microenvironment

○Minamizaki T, Yoshiko Y

(Dept Calcif Tissue Biol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)

US5-3 Exosome-related proteins in developmental stages of mouse odontoblast cells

○Matsuki-Fukushima M, Fujikawa K, Inoue S, Nakamura M

(Dept Oral Anat Dev Biol, Showa Univ Sch Dent)

US5-4 Communication between periodontal bacteria and macrophages in systemic diseases

○Yoshida K¹, Okamura H²

(¹Dept Oral Health Care Educ, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci; ²Inst Biomed Sci, Dept Oral Morpho Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm)

US5-5 Application of Organoids and Extracellular Vesicles to Cancer Research

○Eguchi T^{1,2}, Sogawa C¹, Okamoto K¹

(¹Dept Dent Pharmacol; ²ARCOCS, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharma Sci)

US5-6 The investigation of the impact of mother gut microbiome of the endochondral ossification of embryo.

○Uchida-Fukuhara Y¹, Hattori T², Ikegame M¹, Kubota S², Okamura H¹

(¹Dept Oral Morphol; ²Dept Biochem Mol Dent Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)

Update Symposium 6

US6-1 Differences between odontoblasts and osteoblasts from the viewpoint of origin, differentiation, and phenotype

○Ohshima H

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

US6-2 Drug Repositioning Efficacy of Midazolam on Hard Tissue Forming Cells

○Karakida T, Hidaka Y, Onuma K, Yamamoto R, Saito MM, Chiba-Ohkuma R, Yamakoshi Y

(Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)

US6-3 In vivo Analysis of Mesenchymal Stem Cell using Cre/loxP Gene Modification Technology

○Mizoguchi T

(Oral Health Sci Ctr, Tokyo Dent Coll)

US6-4 Osteoblastic differentiation from the viewpoint of bone/blood vessel interplay

○Hasegawa T¹, Zhao S¹, Yoshino H², Abe M¹

(¹Develop Biol Hard Tissue, Fac Dent Med; ²Sch Dent, Hokkaido Univ)

Update Symposium 7

US7-1 Analysis of Plaque Microbiota and Salivary Proteins Adhering to Dental Materials

○Mukai Y¹, Torii M², Urushibara Y², Kawai T¹, Takahashi Y¹, Maeda N¹, Ohkubo C², Ohshima T¹

(¹Dept Oral microbiol; ²Dept Removable prosthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med)

US7-2 Profiling of Microbiota of Baby-Drinks after Drinking with Artificial Nipples

○Wakui A², Sano H^{1,2}, Kawachi M², Masuda N², Maruyama S², Washio J³, Abiko Y³, Mayanagi G³, Yamaki K³, Takahashi N³, Okada Y¹, Sato T²

(¹Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent Niigata; ²Div Clin Chem, Dept Med Technol, Niigata Univ Grad Sch Health Sci; ³Div Oral Ecol & Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent)

US7-3 Development of Oral Microbiota during the First Two Years of Life

○Kageyama S

(Sect Prevent Dent Public Health, Kyushu Univ Grad Sch Dent)

US7-4 The Antimicrobial Properties of Green Tea-Derived Epigallocatechin Gallate on *Streptococcus mutans*

○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, Chengdu, China; ³Dept Cariol Endodont, Fujian Med Univ Sch Stomatol, Fuzhou, China)

US7-5 Effect of Nitrate (NO₃⁻) and Nitrite (NO₂⁻) on the Growth and NO₂⁻ Producing Activity of Oral *Veillonella* Species

○Wicaksono DP^{1,2}, Washio J¹, Takahashi N¹

(¹Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ²Dept Pediatr Dent, Fac Dent Medicine, Univ Airlangga, Surabaya, Indonesia)

US7-6 A Study on Fimbriae of Oral *Prevotella* spp.

○Nagano K

(Div Microbiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)

Update Symposium 8

US8-1 The underlying mechanisms of smell and taste impairments in toxin-induced animal model.

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

(Dept Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)

US8-2 A New Insight of Tooth Growth ~ 8-hour Ultradian Increments in Mouse Molar Dentin ~

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

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

US8-3 Chronic sympathetic activation induced by occlusal disharmony increased vulnerability to atrial fibrillation in mice

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

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

Update Symposium 9

US9-1 Half a century as an engineer

○Yamada Y

(Oral Health Sci Ctr, Tokyo Dent Coll)

US9-2 Diversity of oral medicine research

○Hirata M

(Oral Med Res Ctr, Fukuoka Dent Coll)

US9-3 How to activate own research ability between individuals and organizations

○Yamaguchi A

(Oral Health Sci Ctr, Tokyo Dent Coll)

Update Symposium 10

US10-1 Fluorescence imaging of Ca²⁺ signaling for live cells and live animals

○Tanimura A, Nezu A
(Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)

US10-2 Analysis of taste receptor function by Ca²⁺ imaging in heterologously expressing system

○Sanematsu K^{1,2}, Shigemura N^{1,2}
(¹Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²R&D Ctr Five-sense, Kyushu Univ)

US10-3 P/Q- and N-type voltage-dependent calcium channels determine short-term plasticity of GABAergic synapses in the rat insular cortex

○Yamamoto K, Kobayashi M
(Dept Pharmacol, Sch Dent, Nihon Univ)

US10-4 Voltage-gated Ca²⁺ channels regulating cellular functions in excitable and non-excitable cells

○Wakamori M¹, Yoshida T¹, Takahashi K¹, Nakamura T¹, Takemoto S²
(¹Div Mol Pharmacol Cell Biophys, Dept Disease Mgt Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ²Div Mol Neurosci, Res Inst Env Med, Nagoya Univ)

US10-5 *in vivo* functional imaging with genetically encoded calcium indicator G-CaMP

○Nakai J¹, Gengyo-Ando K¹, Sato M², Ohkura M³
(¹Div Oral Physiol, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ²Dept Neuropharmacol, Hokkaido Univ Grad Sch Med; ³2nd Dept Pharmacol, Kyusyu Univ Health Welfare Sch Pharmac Sci)

Update Symposium 11

US11-1 A search for senescence-associated extracellular matrix proteases in mouse periodontal tissues - an approach with transcriptome analysis -

○Nakamura M, Sasano Y
(Div Craniofac Dev Tissue Biol, Tohoku Univ Grad Sch Dent)

US11-2 Involvement of aberrant DNA methylation in pathological aging of the oral mucosa

○Abiko Y
(Div Oral Med Pathol, Dent Health Sci Univ Hokkaido)

US11-3 Aging of the trigeminal mesencephalic nucleus in the progression of Alzheimer's disease

○Goto T
(Div Oral Anat Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)

Web Seminar

WS-1 Enamel hypoplasia: Consideration of ameloblast function during the maturation stage in clinical and basic research

○Oka K^{1,2}, Ogata K^{2,3}, Harada H⁴
(¹Div Pediatr Dent; ²Oral Med Res Ctr; ³Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll; ⁴Div Dev Bio Reg Med, Iwate Med Univ Sch Dent)

WS-2 Regulation of ameloblast differentiation by 1,25 dihydroxycholecalciferol

○Nakamura T¹, Wakamori M¹, Fukumoto S^{2,3}
(¹Div Mol Pharmacol Cell Biophys; ²Div Ped Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ³Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)

WS-3 Ion transport in maturation stage ameloblast

○Shin M, Okamoto F, Kajiya H, Okabe K
(Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll)

WS-4 The novel role of proton pump in maturation stage ameloblast.

○Otsu K¹, Ikezaki S¹, Goto-Matsumoto N², Nakanishi-Matsui M², Wada Y³, Sun-Wada G-H⁴,
Harada H¹

(¹Div Dev Bio Reg Med, Iwate Med Univ Sch Dent; ²Dep Biochem, Iwate Med Univ Sch Pharm; ³Div Biol Sci, Inst Sci Ind Res, Osaka Univ; ⁴Dept Biochem, Doshisha Women's Coll)

WS-5 Functional analysis of G-protein coupled receptors in maturation stage of ameloblast

○Chiba Y¹, Saito K¹, Yoshizaki K², Fukumoto S^{1,2}

(¹Div Ped Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ²Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)

Oral Presentations

Nerve and Muscle

01-01 Association between rhythmic masticatory muscle activity and sleep cycles in children

○Shiraishi Y^{1,2}, Yamashiro T², Kato T¹

(¹Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent; ²Dept Orthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent)

01-02 Quantitative analysis of masseter muscle tone during sleep in patients with sleep bruxism

○Toyota R^{1,2}, Kato T¹

(¹Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent; ²Dept Prosthodont Gerodont, Osaka Univ Grad Sch Dent)

01-03 Repeated treadmill running exercises reduced orofacial hyperalgesia following social defeat stress in mice

○Hasegawa M¹, Okamoto K², Fujii N¹, Yamamura K²

(¹Div Dent Clin Educ, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ²Div Oral Physiol, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ)

01-04 Ascending projection of jaw-closing muscle-proprioception to the intralaminar thalamic nuclei in rats

○Sato F, Tsutsumi Y, Furuta T, Yoshida A

(Dept Oral Anat Neurobiol, Osaka Univ Grad Sch)

01-05 Impacts of chronic intermittent hypoxia on the trigeminal somatosensory system in rats

○Katagiri A¹, Kishimoto S^{1,2}, Kato T¹

(¹Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent; ²Dept Dent Anesth, Osaka Univ Grad Sch Dent)

01-06 Context-dependent neural activity of gustatory neurons in the insular cortex during a cue-guided lever-manipulation task

○Kajiwara M^{1,2}, Kobayashi M²

(¹Dept Anesthesiol, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent)

01-07 Anatomical mapping of projection neurons to the ventrolateral part of the periaqueductal gray matter in the rat

○Kawasaki S, Nakaya Y, Kobayashi M

(Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent)

01-08 Mechanisms for the induction of long-term plasticity in GABAergic inhibitory synapses of the insular cortex

○Chikira M^{1,2}, Yamamoto K², Kobayashi M²

(¹Dept Anesthesiol, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent)

01-09 Occlusal anomalies reduce cardiac function by the renin-angiotensin system

○Ito A¹, Ohnuki Y², Umeki D¹, Suita K², Ishikawa M³, Yagisawa Y¹, Matsuo I⁴, Hayakawa Y⁵, Tomonari H¹, Okumura S²

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

01-10 Vidarabine, an anti-Herpes agent, prevents cardiac dysfunction caused by occlusal disharmony without adverse effect on heart function in mice

○Hayakawa Y¹, Ohnuki Y², Suita K², Ishikawa M³, Ito A⁴, Matsuo I⁵, Kiyomoto K⁵, Tsunoda M⁵, Kawahara H¹, Okumura S²

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

01-11 The chronic administration of *Porphyromonas gingivalis*-LPS effects cardiac dysfunction by activating beta-adrenergic receptors signaling

○Matsuo I¹, Suita K², Hayakawa Y³, Kiyomoto K¹, Tsunoda M¹, Ito A⁴, Ishikawa M⁵, Ohnuki Y², Gomi K¹, Okumura S²

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

Microbiology and Immunology

02-01 Synthesis mechanism of *Porphyromonas gingivalis* Fim pili

○Shoji M, Nakayama K, Naito M

(Dept Microbiol Oral Infect, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ)

02-02 The anti-bacterial activity of natural products contained in mulberry leaf extract to oral microorganisms

Shirai T¹, ○Satoh Y², Ishihara K³

(¹Sch Dent, Ohu Univ; ²Dept Oral Maxillofac Surg, Kanto Rosai Hospital; ³Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll)

02-03 Acetaldehyde production by *Streptococcus* species in medium to high concentration ethanol

○Tagaino R^{1,3}, Washio J², Sasaki K³, Takahashi N²

(¹Maxillofac Prosthet Clin, Tohoku Univ Hosp; ²Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ³Div Adv Prosthet Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent)

02-04 Binding mechanism of *Candida albicans* to DMBT1

○Setoguchi D, Oho T

(Dept Prevent Dent, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)

02-05 The effect of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles on lung and oral epithelial cells

○Yamaguchi M¹, Shiotsu N², Takemoto F³, Uchida-Fukuhara Y⁴, Ikegame M⁴, Yoshida K⁵, Kamioka H³, Torii Y², Sasaki A¹, Okamura H⁴

(¹Dept Oral Maxillofac Surg Biopathol, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ²Compr Dent Clinic, Okayama Univ Hosp; ³Dept Orthodont, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ⁴Dept Oral Morphol, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ⁵Dept Oral Health Care Educ, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci)

02-06 Maternal IL-17A caused by the bacterial infection affected on fetal brain system development

○Negoro-Yasumatsu K^{1,2}, Nagao J^{1,3}, Arita-Morioka K^{1,3}, Narita Y^{1,3}, Tasaki S¹, Kido H², Tanaka Y^{1,3}

(¹Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll; ²Div Oral Implantol, Fukuoka Dent Coll; ³Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll)

02-07 Screening for antibiotic tolerance related genes of *Pseudomonas aeruginosa*

○Pahlevi M, Murakami K, Fujii H

(Dept Oral Microbiol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci)

02-08 Gingival keratinocyte-associated immune checkpoint PD-L1 inhibits periodontal inflammation

○Wongtim K¹, Nagai S¹, Okuhara S², Azuma M¹

(¹Dept Mol Immunol, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ; ²Dept Mol Craniofac Embryol, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ)

02-09 Binding and functional properties of VSIG4 (V-set and Ig domain containing 4) -Ig fusion protein

○Widyagarini A, Nagai S, Azuma M

(Dept Mol Immunol, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ)

Tooth

03-01 Micro-CT analysis of teeth of Amelx-tdTomato Knock-In mice and Dspp-GFP Knock-In mice that label ameloblasts and odontoblasts as fluorescent cells

○Isono K, Yamazaki H
(Dept Stem Cell Dev Biol, Mie Univ Grad Sch Med)

03-02 The role of p130Cas in enamel maturation of mice

○Inoue A¹, Gao J¹, Yoshizaki K², Shin M³, Nakatomi C⁴, Nakatomi M⁵, Okabe K³, Ohshima H⁶, Takahashi I², Jimi E¹
(¹Sect Mol Cell Biochem, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Sect Orthod Dentofac Orthop, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ³Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll; ⁴Div Physiol, Kyushu Dent Univ; ⁵Div Anat, Kyushu Dent Univ; ⁶Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ)

03-03 Overexpression of Fam20C in odontoblasts leads to decreased dentin formation

○Naniwa K^{1,2}, Hirose K¹, Usami Y¹, Shirogane Y¹, Okumura M^{1,2}, Komori T³, Toyosawa S¹
(¹Dept Oral Pathol, Osaka Univ Grad Sch Dent; ²Dept Oral Surg 2, Osaka Univ Grad Sch Dent; ³Dept Cell Biol, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ)

03-04 Age estimation using pulp/tooth area ratio in Mongolian samples

○Tsogtsaikhan K^{1,2}, Hatano Y¹, Yoshida K¹, Bimedekhgui G³, Minjuur T², Garidkhuu A^{2,4}, Kosaka M¹, Suzuki T¹, Sasaki K¹
(¹Div Dent Digit Forensics, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ²Grad Sch, Mongolian Natl Univ Med Scis, Mongolia; ³Natl Inst Forensic Sci, Mongolia; ⁴Dept Publ Health, International Univ Health Welfare)

03-05 Reconsider the effect of surgical fiber tip initiation using a diode laser (Possibility of application to other wavelengths)

○Nakajima K¹, Tamaki K², Uemura M³, Toyama Y⁴, Maejima K⁵
(¹Dept Oral Med, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Apatite Corp; ³Dept Anat, Osaka Dent Univ; ⁴Seibo Dental Office; ⁵Maejima Dental Clinic)

Bone metabolism

04-01 M2-like macrophage infiltration and TGF-beta secretion at the early stage of socket healing

○Horibe K¹, Hara M², Nakamura H¹
(¹Dept Oral Anat, Matsumoto Dent Univ; ²Dept Oral Diagn, Matsumoto Dent Univ Hosp)

04-02 Expression of p53 in mesenchymal stromal cells has the inhibitory effects on the process of bone defect repair

○Ninomiya T¹, Nagashima T², Nakamura Y³, Ohashi A¹, Fujiwara K¹, Takahashi T¹
(¹Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent; ²Div Oral Surg, Dept Oral Maxillofac Surg, Nihon Univ Sch Dent; ³Dept Orthodont, Nihon Univ Sch Dent)

04-03 Histochemical assessment on cortical porosity induced by intermittent PTH administration in mice

○Abe M^{1,3}, Yamamoto T², Hongo H³, Amizuka N³, Hasegawa T³
(¹Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ²Dental Unit, Camp Asaka, Japan Ground Self-Defense Force; ³Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)

04-04 Factors secreted from dental pulp stem cells show multifaceted benefits for treating experimental temporomandibular joint osteoarthritis

○Kano F, Yamamoto A
(Dept Anat Histol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci)

04-05 TAK1 upregulates the PP2A inhibitor CIP2A to potentiate survival signaling pathways in myeloma cells

○Teramachi J

(Dept Oral Funct Anat, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ)

04-06 S-adenosylmethionine promotes ECM production and proliferation of chondrocytes through polyamine synthesis

○Aoyama E¹, Kubota S², Takigawa M¹

(¹ARCOCS, Dent Sch, Okayama Univ; ²Dept Biochem Mol Dent, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ)

04-07 JNK inactivation suppresses osteogenic differentiation, but robustly induces osteopontin expression in osteoblasts through the induction of Id4

○Kusuyama J¹, Seong CH², Ohnishi T², Shima K³, Semba I³, Matsuguchi T²

(¹Front Res Inst Interdiscipl Sci (FRIS), Tohoku Univ; ²Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci; ³Dept Oral Pathol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)

Tumor and others

05-01 Involvement of high mobility group box 1 (HMGB1) in muscle fiber regeneration in tongue cancer

○Ogasawara Y^{1,2}, Sakiyama K¹, Onozawa G^{1,3}, Nagasaka A¹, Bando Y¹, Amano O¹

(¹Div Anat, Meikai Univ Grad Sch Dent; ²Div Oral Maxillofac Surg 2, Meikai Univ Sch Dent; ³Div Oral Maxillofac Surg 1, Meikai Univ Sch Dent)

05-02 Relation between muscle fibers regeneration and high mobility group box 1(HMGB1) in a model mouse of muscular dystrophy

○Sakiyama K¹, Ogasawara Y^{1,2}, Onozawa G^{1,3}, Nagasaka A¹, Bando Y¹, Amano O¹

(¹Div Anat, Meikai Univ Sch Dent; ²Div Oral Maxillofac Surg 2, Meikai Univ Sch Dent; ³Div Oral Maxillofac Surg 1, Meikai Univ Sch Dent)

05-03 Regulation of fibrosis by nuclear translocation of CCN2

○Nishida T^{1,2}, Takigawa M², Kubota S¹

(¹Dept Biochem Mol Dent, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ²ARCOCS, Dent Sch, Okayama Univ)

05-04 Analyzing a mechanism that causes downregulated therapeutic effects of biliary atresia patient-derived-stem cells from human exfoliated deciduous teeth

○Sonoda S, Murata S, Kato H, Kyumoto Y, Uehara N, Kukita T, Yamaza T

(Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ)

05-05 (withdrawn)

05-06 Alendronate up-regulated the expression of caspase-11

○Tamai R, Mashima I, Kiyoura Y

(Div Oral Infect Immun, Sch Dent, Ohu Univ)

05-07 Dose-dependent biphasic effects of glycine on vascular development of zebrafish embryos

○Tsuji-Tamura K, Sato M, Tamura M

(Dept Oral Biochem Mol Biol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)

05-08 Analysis of brain and face development by small tag knock-in mouse using genome editing iGONAD method

○Aoto K

(Dept Biochem, Hamamatsu Univ Sch Med)

Salivary gland

06-01 Cdc42 facilitate apical membrane formation through regulation of membrane trafficking

○Shitara A, Ohno Y, Nagase H, Kashimata M
(Dept Pharmacol, Fac Dent, Asahi Univ)

06-02 Selective transport of secretory proteins to the regulated and constitutive pathways in salivary acinar cells

○Fujita-Yoshigaki J, Yokoyama M, Katsumata-Kato O
(Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo)

06-03 (withdrawn)

06-04 Light conditions affect rhythmic expression of Aquaporin5 and Anoctamin1 in rat submandibular glands

○Sato R, Sugihara N
(Dept Publ Health, Tokyo Dent Coll)

06-05 Benefits of the human salivary gland organoids for the research of salivary gland dysfunctions

○Yoshimoto S¹, Anzai H^{1,2}, Okamura K¹, Hashimoto S¹
(¹Div Pathol, Fukuoka Dent Coll; ²Div Oral Surg, Fukuoka Dent Coll)

Bone, Cartilage, and Bone metabolism

- P1-01 Control of glucose and lipid metabolism based on fetal nutrition environment and its involvement of osteocalcin**
○Kawakubo-Yasukochi T¹, Mizokami A¹, Kimura S^{1,2}, Nakamura S², Jimi E¹, Hirata M³
(¹OBT Res Center, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Sect Oral Maxillofac Oncol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ³Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll)
- P1-02 Histological characteristics and role of the membranous bone formed in the anterior part of Meckel's cartilage**
○Inoue K¹, Maruoka H², Hasegawa T¹, Yamamoto T¹, Yawaka Y³, Amizuka N¹
(¹Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ²Dept Orthodont, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ³Dept Dent Child Disabled Person, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
- P1-03 G9a regulates mouse cranial bone formation through Runx2 function**
○Ideno H¹, Komatsu K¹, Nakashima K¹, Arai Y², Nifuji A¹
(¹Dept Pharmacol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Dept Oral Maxillofac Radiol, Nihon Univ Sch Dent)
- P1-04 TBX1 regulates chondrocyte maturation in the spheno-occipital synchondrosis through TBX1-RUNX2 axis**
○Funato N^{1,2}, Shibata S³
(¹Dept Signal Gene Regul, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ; ²Res Core, Tokyo Med Dent Univ; ³Dept Maxillofac Anat, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ)
- P1-05 Roles of retinoic acid signaling in chondrocytes**
○Uchibe K, Terayama R
(Dept Maxillofac Anat Neurosci, Grad Sch Biomed Health Sci, Hiroshima Univ)
- P1-06 An important role of Egr-1 in BMP-9-induced osteoblast differentiation**
○Chiba N, Seong CH, Ohnishi T, Matsuguchi T
(Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
- P1-07 Hif-1 α protein is rapidly increased by BMP9 and is important in osteoblast differentiation by inducing a glycolytic enzyme, PDK1**
○Matsuguchi T¹, Chiba N¹, Seong CH^{1,2}, Ohnishi T¹
(¹Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci; ²Dept Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
- P1-08 Annexin A5 KO promotes the mineralization of tendon/ligament entheses**
○Komatsu K¹, Ideno H¹, Arai Y², Wada S³, Nakashima K¹, Yamashita T⁴, Nifuji A¹
(¹Dept Pharmacol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Nihon Univ Sch Dent; ³Dept Orthodont, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ⁴Div Hard Tissue Res, Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ)
- P1-09 The effect of short-term estrogen administration on the repair process of metaphysis in ovariectomized mice**
○Inoue S, Fujikawa K, Fukushima M, Nakamura M
(Dept Oral Anat Dev Bio, Sch Dent, Showa Univ)
- P1-10 Identification and functional analysis of the osteoblast-specific membrane protein possibly involved in the fine regulation of bone remodeling**
○Hiura H^{1,2}, Kumamoto Y², Uehara N², Zhang JQ², Gu JY², Yamaza T², Kukita A³, Takahashi I¹, Kukita T²
(¹Sect Orthod Dentofac Orthop, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Sect Orthod Dentofac Orthop, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ³Div Microbiol, Fac Med, Saga Univ)

P1-11 Continuous stimulation of propofol suppresses osteoclast differentiation and the expression of bone resorption-related factors in RAW264.7 cells

○Satomi H^{1,2,3}, Oka S^{1,3}, Tanaka H^{2,4}, Nakai K^{2,4}, Kawato T^{2,4}

(¹Dept Anesthesiol, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Oral Health Sci, Nihon Univ Sch Dent; ³Div Immunol Pathobiol, Dent Res Center, Nihon Univ Sch Dent; ⁴Div Funct Morphol, Dent Res Center Nihon Univ Sch Dent)

P1-12 Involvement of membrane nanotubes and osteoclasts formation in bone resorption and inflammatory bone destruction

○Zhang JQ¹, Gu JY¹, Kyumoto Y¹, Kukita A², Zhang X³, Uehara N¹, Hiura H^{1,4}, Yamaza T¹, Kukita T¹

(¹Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Div Microbiol, Fac Med, Saga Univ; ³Sect Implant Rehabil Dent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ⁴Sect Orthod Dentofac Orthop, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ)

P1-13 Three-dimensional reconstruction of Golgi apparatus of osteoclasts by backscattered electron-mode scanning electron microscopy

○Yamamoto T, Hasegawa T, Hongo H, Amizuka N

(Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)

P1-14 Novel osteoclast-specific membrane antigen related to the functional regulation of osteoclasts

○Gu JY¹, Kyumoto Y¹, Teramachi J², Hiura H^{1,3}, Zhang JQ¹, Zhang X⁴, Uehara N¹, Yamaza T¹, Kukita A⁵, Kukita T¹

(¹Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Dept Oral Funct Anat, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ³Sect Orthod Dentofac Orthop, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ⁴Sect Implant Rehabil Dent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ⁵Div Microbiol, Fac Med, Saga Univ)

Immunology

P1-15 Tolerogenic properties of CD206⁺ macrophages appeared in the sublingual mucosa after repeated antigen-painting

○Nagai S, Yang Y, Azuma M

(Dept Mol Immunol, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ)

P1-16 Influence of administration of a mixture of periodontopathic bacteria *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis* on periodontitis

○Toda M¹, Kono T², Kobayashi R³, Watanabe A², Tamamura R², Kurita-Ochiai T³, Okada H²

(¹Nihon Univ Grad Sch Dent Matsudo; ²Dept Histol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo; ³Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo)

P1-17 The antimicrobial peptide LL-37 forms a complex with DNA from periodontopathic bacteria and exerts osteoclast-inducing activity

○Inomata M, Into T

(Dept Oral Microbiol, Fac Dent, Asahi Univ)

P1-18 Inhibition of cell growth of oral squamous cell carcinoma cells by methylation inhibitors

○Ushio R^{1,2}, Hiroi M¹, Shimada J², Ohmori Y¹

(¹Div Microbiol Immunol, Meikai Univ Sch Dent; ²Div Oral Maxillofac Surg 1, Meikai Univ Sch Dent)

P1-19 Investigation of pathophysiological mechanisms with Th17 cells in oral candidiasis

○Tasaki S^{1,2}, Arita-Morioka K^{2,3}, Nagao J^{2,3}, Narita Y^{2,3}, Negoro-Yasumatsu K², Kojima H¹, Tanaka Y^{2,3}

(¹Div Dent Disabled, Fukuoka Dent Coll; ²Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll; ³Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll)

- P1-20 Analysis of lung lesions in Sjögren's syndrome model mice**
 ○Sato M, Tsunematsu T, Ishimaru N
 (Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci)
- P1-21 A role of MyD88 signaling in lymphoid follicle formation in the salivary gland of NOD mice**
 ○Mori T, Kataoka H, Into T
 (Dept Oral Microbiol, Fac Dent, Asahi Univ)
- P1-22 Analysis of pathological mechanism of periodontal disease via Th17 cell immune response**
 ○Nagao J^{1,2}, Narita Y^{1,2}, Arita-Morioka K^{1,2}, Negoro-Yasumatsu K¹, Tasaki S¹, Tanaka Y^{1,2}
 (¹Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll; ²Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll)
- P1-23 The roles of TLR2 in the NLRP3 inflammasome activation induced by mycoplasmal lipoproteins/lipopeptides**
 ○Saeaki A¹, Into T², Hasebe A¹, Shibata K¹
 (¹Dept Oral Mol Microbiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ²Dept Oral Microbiol, Fac Dent, Asahi Univ)
- P1-24 Identification of microRNA regulating the enhancement of the oral immune system**
 ○Kobayashi R, Hashizume-Takizawa T, Kurita-Ochiai T
 (Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo)
- P1-25 Immunohistochemical study for the expression of renal physiologically active molecules in *Porphyromonas gingivalis* LPS-induced diabetic nephropathy**
 ○Kajiwara K¹, Fujita T¹, Sawa Y²
 (¹Div Orthodont, Fukuoka Dent Coll; ²Dept Oral Funct Anat, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ)
- P1-26 Effects of inflammatory cytokines on the expression of angiogenic factors in adipocytes**
 ○Nakai K¹, Tanaka H^{1,2}, Kawato T^{1,2}
 (¹Dept Oral Health Sci, Nihon Univ Sch Dent; ²Div Funct Morphol, Dent Res Center Nihon Univ Sch Dent)
- P1-27 Elucidation of molecular mechanisms underlying lipopolysaccharide-induced suppression of osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells**
 ○Aoki T^{1,2}, Yokota S¹, Chosa N¹, Kamo M¹, Noda M², Ishisaki A¹
 (¹Div Cell Biosignal Sci, Dept Biochem, Sch Dent, Iwate Med Univ; ²Div Oper Dent Endodont, Sch Dent, Iwate Med Univ)
- P1-28 The molecular mechanism between COX-2 expression and calcium influx by *P. gingivalis* gingipains**
 ○Nakayama M^{1,2}, Naito M³, Nakayama K³, Ohara N^{1,2}
 (¹Dept Oral Microbiol, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ²ARCOCS, Dent Sch, Okayama Univ; ³Dept Microbiol Oral Infect, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ)
- P1-29 Dynamic change of tetrahydrobiopterin and dihydrobiopterin in plasma and erythrocytes**
 ○Ohashi A, Takahashi T
 (Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent)
- P1-30 A new animal model for investigation of the oral mucositis disease**
 ○Takeuchi R¹, Matsumoto H², Hiratsuka K¹
 (¹Dept Biochem Mol Biol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo; ²Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo)

P1-31 Effects of mitochondrial proteins with modified asparagine residues on alveolar epithelial cells

○Ogasawara M¹, Ibi M², Irie T²

(¹Dept Pharmacol, Sch Dent, Iwate Med Univ; ²Dept Pathol, Sch Dent, Iwate Med Univ)

Tumor

P1-32 The cross-talk between Netrin-1 and BMP-Smad signaling promotes migration and invasion of Malignant Melanoma

○Goto A, Addison WN, Mizuta K, Matsubara T, Kokabu S

(Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ)

P1-33 Near-infrared photoimmunotherapy using a small protein mimetic for HER2-overexpressing breast cancer

○Yamaguchi H, Morita T

(Dept Biochem, Nippon Dent Univ Niigata)

P1-34 Mitochondrial dysfunction enhances hydrogen peroxide-induced ferroptosis by up-regulating the expression of aquaporin3, 5, and 8

○Tomita K¹, Taka Y^{1,2}, Igarashi K¹, Nishitani Y², Sato T¹

(¹Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci; ²Dept Restorat Dent Endodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)

P1-35 Plectin controls the growth, migration and adhesion of malignant melanoma

○Mizuta K, Matsubara T, Goto A, Addison WN, Kokabu S

(Div Mol Signal Biochem, Kyushu Dent Univ)

P1-36 Clinical significance of high endothelial venules in oral squamous cell carcinoma

○Matsuda A¹, Niiyama T^{1,2}, Maishi N¹, Higashino F¹, Hida K¹

(¹Dept Vasc Biol Mol Pathol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ²Dept Oral Tumor Surg, Hokkaido Cancer Center)

P1-37 The effects of midazolam on the immune suppression in the microenvironment of oral squamous cell carcinoma tissue

○Kamiya M¹, Matsunami A^{2,3}, Ando M³, Ueno K³, Umemura N³, Kawaki H³, Takayama E³, Muramatsu Y², Chihara E⁴, Kondoh N³

(¹Chem Lab, Fac Business Admin, Asahi Univ; ²Dept Oral Maxillofac Surg, Fac Dent, Asahi Univ; ³Dept Oral Biochem, Fac Dent, Asahi Univ; ⁴Dept Surg, Fac Dent, Asahi Univ)

P1-38 The expression of S100a8 and S100a9 in oral mucosal lesion

○Nakao J, Ehara M, Ochiai T, Matsuoka T, Nagayama M

(Dept Oral Microbiol, Fac Dent, Asahi Univ)

P1-39 Identification of functional domain of DKK3, a head and neck squamous cell carcinoma-specific cancer associated gene

○Katase N, Fujita S

(Dept Oral Pathol, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ)

P1-40 Effects by Brazilian propolis (BP) upon immune regulatory function of mesenchymal stromal cells in tumor microenvironments

○Ando M¹, Matsunami A², Kamiya M³, Ikeno K⁴, Ueno K¹, Umemura N¹, Kawaki H¹, Takayama E¹, Nakamura G⁴, Kondoh N¹

(¹Dept Oral Biochem, Fac Dent, Asahi Univ; ²Dept Oral Maxillofac Surg, Fac Dent, Asahi Univ; ³Chem Lab, Fac Business Admin, Asahi Univ; ⁴R&D Dept, Akitaya Honten Co, Ltd)

P1-41 Regulation of immune modulators from mouse oral squamous carcinoma cells, Sq-1979, treated by Brazilian propolis (BP)

○Matsunami A¹, Kamiya M³, Ando M², Ikeno K⁴, Umemura N², Kawaki H², Takayama E², Muramatsu Y¹, Nakamura G⁴, Kondoh N²

(¹Dept Oral Maxillofac Surg, Fac Dent, Asahi Univ; ²Dept Oral Biochem, Fac Dent, Asahi Univ; ³Chem Lab, Fac Business Admin, Asahi Univ; ⁴R&D Dept, Akitaya Honten Co, Ltd)

P1-42 The regulation of BP180 expression in oral squamous cell carcinoma

○Yasukochi A^{1,2}, Kawakubo-Yasukochi T³, Nakamura S¹

(¹Sect Oral Maxillofac Oncol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Atsushi Dental Clinic; ³OBT Res Center, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ)

P1-43 Delayed healing effect of ramucirumab in mucosal injury model mouse

○Yamada M¹, Iijima Y¹, Nakayama N¹, Hino S¹, Kaneko T¹, Sano M², Sakagami H³, Horie N¹

(¹Dept Oral Maxillofac Surg, SMC, Saitama Med Univ; ²Divi Appl Pharm Educ Res, Pharm Educ Res Center, Hoshi Univ; ³Meikai Univ Res Inst Odontol (M-RIO))

P1-44 Producing EBV positive lymphoma model mouse -Compare with Human EBV positive DLBCL-

○Koike R¹, Imai K²

(¹Div Oral Surg, Dept Oral Maxillofac Surg, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent)

Anatomy

P2-01 Application of artificial intelligence to dental science

○Igarashi Y¹, Kondo S¹, Kaneko M², Uchikoba F²

(¹Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent Matsudo; ²Dept Precis Machin Engineer, Coll Sci Technol, Nihon Univ)

P2-02 (withdrawn)

P2-03 Dental crown formation of maxillary molars deduced from morphological variation in sex chromosome aneuploidies

○Nakayama M¹, Matsuno M², Utsunomiya T¹, Kuyama K¹

(¹Dept Oral Pathol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo; ²Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent Matsudo)

P2-04 Tissue regeneration process during platelet-rich fibrin adaptation

○Liu YH, To M, Matsuo M

(Dept Oral Sci, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ)

P2-05 Three-dimensional tissue culture model using mouse-derived myoblasts and fibroblasts

○Naitou T^{1,4}, Hirouchi H¹, Yamamoto M^{1,4}, Matsunaga S^{1,4}, Yotsuya M^{2,4}, Sato M^{3,4}, Abe S^{1,4}

(¹Dept Anat, Tokyo Dent Coll; ²Dept Fixed Prosthodont, Tokyo Dent Coll; ³Lab Biol, Tokyo Dent Coll; ⁴Res Branding Project, Tokyo Dent Coll)

P2-06 (withdrawn)

P2-07 Morphological study of human facial and subcutaneous tissue structure by histological observation

Amano K¹, Inaba K¹, Hidaka K², Matsuo M¹

(¹Dept Oral Sci, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ; ²Dept Oral Interdiscipl Med, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ)

P2-08 An EDAC study focusing on cell-extracellular matrix junctions

○Kitagawa N^{1,2}

(¹Dept Morph Struct, Fukuoka Dent Coll; ²Pathol PF, Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll)

P2-09 Distribution of neurotransmitter agents in postganglionic neurons of the human middle cervical ganglion

○Sato T, Yajima T, Ichikawa H
(Div Oral Craniofac Anat, Tohoku Univ Grad Sch Dent)

Nerve

P2-10 (withdrawn)

P2-11 Suppression of the swallowing reflex by stimulation of the pedunculo-pontine tegmental nucleus

○Sato Y
(Dept Physiol, Nippon Dent Univ Niigata)

P2-12 Reciprocal inhibitory action of orexin-A and glucagon-like peptide-1 on reflex swallowing induced by SLN afferents in rats

○Kobashi M, Mitoh Y, Yoshida R
(Dept Oral Physiol, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ)

P2-13 Localization of amyloid β and age-related changes in neurons using 3xTg-AD mice

○Sonoda R^{1,2}, Kuramoto E², Goto T²
(¹Dept Periodontol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci; ²Dept Oral Anat Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)

P2-14 Genetic tracing-based characterization of bitter-taste relaying neurons in the parabrachial nuclei

○Sugita M
(Dept Physiol Oral Physiol, Grad Sch Biomed Health Sci, Hiroshima Univ)

P2-15 Roles of nicotinic acetylcholine receptors and dopamine receptors in synaptic plasticity of the mouse insular cortex

○Toyoda H, Sato H, Kato T
(Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)

P2-16 Morphological analysis of cortico-cortical projection from motor cortex to somatosensory cortex

○Furuta T, Yoshida A
(Dept Oral Anat Neurobiol, Osaka Univ Grad Sch)

P2-17 Prenatal exposure to bisphenol A induces habituation to predator-odor stress in young rats

○Fujimoto T
(Dept Physiol, Osaka Dent Univ)

P2-18 Effect of bone matrix protein osteocalcin on PC12 cells

○Ando E^{1,2}, Higashi S², Mizokami A³, Watanabe S¹, Hirata M⁴, Takeuchi H²
(¹Div Dent Anesthesiol, Kyushu Dent Univ; ²Div Appl Pharmacol, Kyushu Dent Univ; ³OBT Res Center, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ⁴Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll)

P2-19 Possible mechanisms for the effects of A₃ adenosine receptor agonist on neuropathic pain

○Terayama R, Uchibe K
(Dept Maxillofac Anat Neurosci, Grad Sch Biomed Health Sci, Hiroshima Univ)

- P2-20 Protection of bortezomib-induced neurotoxicity by antioxidants**
 ○Iijima Y¹, Amano S², Bandow K³, Sano M⁴, Nakayama N¹, Yamada M¹, Hino S¹, Kaneko T¹, Horie N¹, Sakagami H⁵
 (¹Dept Oral Maxillofac Surg, SMC, Saitama Med Univ; ²Div Microbio Immunol, Meikai Univ Sch Dent; ³Dept Oral Biol Tissue Eng, Meikai Univ Sch Dent; ⁴Divi Appl Pharm Educ Res, Pharm Educ Res Center, Hoshi Univ; ⁵Meikai Univ Res Inst Odontol (M-RIO))
- P2-21 Enhancement of sweet taste responses by Adrenomedullin may be mediated by T1Rs-independent sweet taste pathway in mice**
 ○Iwata S^{1,2}, Inoue M³, Yoshida R⁴, Shigemura N¹, Ninomiya Y^{2,5}
 (¹Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Div Sens Physiol Med Appl Sensing, R&D Center for Five-Sense Devices, Kyushu Univ; ³OBT Res Center, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ⁴Dept Oral Physiol, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ⁵Monell Chem Senses Center, USA)
- P2-22 Distribution of TRPM3 in the rat sensory ganglion**
 ○Yajima T, Sato T, Shimazaki K, Ichikawa H
 (Div Oral Craniofac Anat, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
- P2-23 Two bottle preference test for 3 thickeners in rats**
 ○Nakamura F, Yasuo T, Suwabe T, Sako N
 (Dept Oral Physiol, Fac Dent, Asahi Univ)
- P2-24 The enhancing effect of flecainide on sour taste sensitivity in mice**
 ○Kawabata Y¹, Takai S¹, Yoshida R², Sanematsu K^{1,3}, Shigemura N^{1,3}
 (¹Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Dept Oral Physiol, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ³R&D Center for Five-Sense Devices, Kyushu Univ)
- P2-25 Possible mechanism of nutrient sensing in gustatory ganglion cells of rats**
 ○Suwabe T, Yasuo T, Sako N
 (Dept Oral Physiol, Fac Dent, Asahi Univ)
- P2-26 A potential action of imipramine for the amelioration of neural impairment, which is induced by microglia exposed to *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide**
 ○Yamawaki Y¹, Kanematsu T²
 (¹Lab Adv Pharmacol, Daiichi Univ Pharm; ²Dept Cell Biol Pharmacol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ)

Salivary gland

- P2-27 Gene expression through β -arrestin signaling induced by stimulation with muscarinic agonists**
 ○Morita T¹, Nezu A², Sato R^{1,3}, Tanimura A²
 (¹Dept Biochem, Nippon Dent Univ Niigata; ²Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ³Dept Dent Hyg, Nippon Dent Univ Coll Niigata)
- P2-28 Effects of differences in fat addition and fructo-oligosaccharide addition on salivary IgA flow rate in rats**
 ○Yamamoto Y¹, Saruta J², Sakaguchi W², To M², Tsukinoki K²
 (¹Sch Dent Hyg, Kanagawa Dent Univ Junior Coll; ²Dept Oral Sci, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ)
- P2-29 Analysis of the molecular mechanism of compensatory hypertrophy-associated enhancement of salivary secretion using the intravital imaging and gene analysis**
 ○Nezu A¹, Takahashi S², Morita T³, Tanimura A¹
 (¹Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ²Dept Oral Funct Anat, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ³Dept Biochem, Nippon Dent Univ Niigata)

- P2-30 Comparison of expression of S100 proteins in parotid glands of Sjögren's syndrome model mice, young and old mice**
 ○Sato R¹, Nashida T², Mizuhashi F³, Shimomura-Kuroki J⁴, Morita T²
 (¹Dept Dent Hyg, Nippon Dent Univ Coll Niigata; ²Dept Biochem, Nippon Dent Univ Niigata; ³Dept Remov Prosthodont, Nippon Dent Univ Niigata; ⁴Dept Pediatr Dent, Nippon Dent Univ Niigata)
- P2-31 Comparison of clinical data and exhaustive immunohistochemical staining results in Sjögren's syndrome**
 ○Ono J, Sano H, Okada Y
 (Dept Pathol, Nippon Dent Univ Niigata)
- P2-32 Effects of hDPSCs-derived extracellular vesicles in ex vivo murine Sjögren syndrome model**
 ○Koma Y, Sakai K, Dong J, Maruyama H, Liu K, Watanabe J, Hibi H
 (Dept Oral Maxillofac Surg, Nagoya Univ Grad Sch Med)
- P2-33 Psychological stress induced alteration of inflammatory cytokines in the submandibular glands and saliva of mice**
 ○Paudel D, Morikawa T, Yoshida K, Abiko Y
 (Div Oral Med Pathol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)
- P2-34 Analysis of carbohydrate chains of N-glycoproteins in salivary exosomes**
 ○Imai A^{1,2}, Tsujimura M³, Oka S⁴, Saitoh E⁵
 (¹Dept Dent Hyg, Nippon Dent Univ Coll Niigata; ²Dept Biochem, Nippon Dent Univ Niigata; ³Dept Histol, Nippon Dent Univ Niigata; ⁴Dept Biol, Nippon Dent Univ Niigata; ⁵Grad Sch Technol, Niigata Inst Technol)
- P2-35 Difference between somatosensory and gustatory input in the hemodynamics in rat major salivary glands**
 ○Sato T, Ramadhani R, Mito K, Ishikawa R, Ishii H
 (Div Physiol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)
- P2-36 Clinicopathological statistics of salivary gland tumors in Tokyo Dental College**
 ○Chujo T, Akashi Y, Yamada R, Yamamoto K, Nakajima K, Kokubun K, Matsuzaka K
 (Dept Pathophysiol, Tokyo Dent Coll)
- P2-37 Mouse salivary gland-derived myoepithelial cells differentiate into ductal lineage via Notch signaling**
 ○Yasuhara R, Tanaka J, Mishima K
 (Div Pathol, Dept Oral Diagn Sci, Sch Dent, Showa Univ)
- P2-38 Role of zinc in TAS2R8 expression**
 ○Kojima T¹, Kaneko R¹, Maeda T², Suzuki A², Yamamori T¹, Kato Y²
 (¹Dept Prosthet Dent, Sch Dent, Ohu Univ; ²Div Oral Biochem, Sch Dent, Ohu Univ)

Signal transduction

- P3-01 Role of microphthalmia-associated transcription factor in masseter muscle remodeling**
 ○Nariyama M¹, Ohnuki Y², Suita K², Ito A³, Ishikawa M⁴, Matsuo I⁵, Hayakawa Y⁶, Umeki D³, Asada Y¹, Okumura S²
 (¹Dept Pediatr Dent, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Dept Physiol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ³Dept Orthodont, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ⁴Dept Oral Anat, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ⁵Dept Periodont, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ⁶Dept Dent Anesthesiol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ)

- P3-02 Effect of S-PRG filler eluate on signal transduction in MMP-1 and MMP-3 secretion in TNF- α stimulated human gingival fibroblasts**
 ○Inoue H, Mao D, Goda S
 (Dept Physiol, Osaka Dent Univ)
- P3-03 The regulatory effect of beta-glucan on the expression of IL-10 induced by LPS of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in murine macrophages**
 ○Thongsiri C¹, Nishihara T², Ariyoshi W²
 (¹Div Periodont, Kyushu Dent Univ; ²Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ)
- P3-04 mRNA expression levels of taste-signaling molecules in jejunum of severe obese patients**
 ○Yasuo T^{1,2}, Sako N¹, Ninomiya Y^{2,3}
 (¹Dept Oral Physiol, Fac Dent, Asahi Univ; ²Monell Chem Senses Center, USA; ³R&D Center for Taste Odor Sensing, Kyushu Univ)
- P3-05 Adipose tissue-specific knockout of GPRC6A promotes diet-induced obesity by inhibiting lipolysis**
 ○Mizokami A¹, Otani T², Matsuda M³, Kawakubo-Yasukochi T¹, Takeuchi H⁴, Jimi E^{1,3}, Hirata M⁵
 (¹OBT Res Center, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll; ³Sect Mol Cell Biochem, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ⁴Div Appl Pharmacol, Kyushu Dent Univ; ⁵Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll)
- P3-06 (withdrawn)**
- P3-07 (withdrawn)**

Tooth, Periodontal tissue, and Embryology

- P3-08 CDK4/CyclinD1 control submandibular gland branching morphogenesis**
 ○Gojo N¹, Ikai K², Minagi H^{4,5}, Sakai M³, Sakai T¹
 (¹Dept Oral-Facial Disord, Osaka Univ Grad Sch Dent; ²Specially appointed researcher, Dept Oral-Facial Disord, Osaka Univ Grad Sch Dent; ³Dept Clin Lab, Osaka Univ Dent Hosp; ⁴Dept Cytol Histol, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ; ⁵JSPS Research Fellow)
- P3-09 Multiple effects of ethanol extract of Brazilian Green Propolis on the human bone marrow stem cells**
 ○Shintani K¹, Kawaki H², Ueno K², Tsuruta H³, Kamiya M⁴, Ikeno K⁵, Nakamura G⁵, Tamaki Y¹, Hotta M⁶, Kondoh N²
 (¹Dept Dent Mater Sci, Fac Dent, Asahi Univ; ²Dept Oral Biochem, Fac Dent, Asahi Univ; ³Dept Endodont, Fac Dent, Asahi Univ; ⁴Chem Lab, Fac Business Admin, Asahi Univ; ⁵Akitaya Honten Co, Ltd; ⁶Asahi Univ)
- P3-10 Evaluation of modified S-PRG filler eluate using ion-exchanged materials**
 ○Ueno K¹, Kawaki H¹, Tatsumi Y², Shintani K³, Umemura N¹, Kamiya M⁴, Takayama E¹, Hotta M⁵, Nikaidoh T², Kondoh N¹
 (¹Dept Oral Biochem, Fac Dent, Asahi Univ; ²Dept Endodont, Fac Dent, Asahi Univ; ³Dept Dent Mater Sci, Fac Dent, Asahi Univ; ⁴Chem Lab, Fac Business Admin, Asahi Univ; ⁵Asahi Univ)
- P3-11 Osseointegration between ceria-stabilized zirconia and bone hydroxyapatite crystal at nanoscale**
 ○Saito MM, Yamamoto R, Yamakoshi Y
 (Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ)
- P3-12 (withdrawn)**

- P3-13 Temporal change of human enamel crystal demineralization by micro-FTIR method**
 ○Watanabe A¹, Kono T¹, Toda M², Tamamura R¹, Sakae T¹, Okada H¹
 (¹Dept Histol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo; ²Nihon Univ Grad Sch Dent Matsudo)
- P3-14 Functional expression of chondroitin sulfate in the developmental and regeneration healing process of dental pulp tissue in mice**
 ○Ida-Yonemochi H, Ohshima H
 (Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ)
- P3-15 Elucidation of the functional role in maturation stage ameloblasts**
 ○Inaba A^{1,2}, Otsu K¹, Ikezaki S¹, Arai H^{1,2}, Morikawa K², Harada H¹
 (¹Div Anat, Grad Sch Dent, Iwate Med Univ; ²Div Pediatr Dent, Grad Sch Dent, Iwate Med Univ)
- P3-16 Shikonin induces odontoblastic differentiation of dental pulp stem cells via AKT-mTOR signaling in the presence of CD44**
 Kajiura K¹, Umemura N², Ueno K², Kawaki H², Takayama E², Kawano S¹, Kondoh N²
 (¹Dept Endodont, Fac Dent, Asahi Univ; ²Dept Oral Biochem, Fac Dent, Asahi Univ)
- P3-17 Studies on the development of Hertwig's epithelial root sheath by 3 dimensional construction during multirooted tooth formation**
 ○Kikuchi N¹, Kitamura K¹, Kasahara N¹, Ogawa Y¹, Ishikawa N², Yamamoto M³, Abe S³, Yamamoto H¹
 (¹Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll; ²Dept Forensic Odontol Anthropol, Tokyo Dent Coll; ³Dept Anat, Tokyo Dent Coll)
- P3-18 Examination of thecodont in the tooth supporting mode: a case of fossils of mosasaurus**
 ○Mishima H¹, Chiba T², Miake Y³
 (¹Dept Dent Eng, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Res Center Electr Microsc, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ³Dept Oral Anat, Sch Dent Med, Tsurumi Univ)
- P3-19 Microvascular changes after the application of carbonate apatite granule graft**
 ○Matsuo M, To M, Matsuo M
 (Dept Oral Sci, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ)
- P3-20 Production of radicular cysts model mouse**
 ○Ikezaki S¹, Sakano-Kumakami M¹, Azumane M², Otsu K¹, Harada H¹
 (¹Div Dev Bio Reg Med, Sch Dent, Iwate Med Univ; ²Div Oral Maxillofac Reg, Sch Dent, Iwate Med Univ)
- P3-21 Cynaropicrin suppresses LPS-induced production of inflammatory cytokines and RANKL-induced osteoclast differentiation**
 ○Yokoe S¹, Watanabe N¹, Sato S¹, Imai K²
 (¹Dept Periodontol, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent)
- P3-22 Tensile strain changes the component of microRNA in exosomes produced by periodontal ligament fibroblasts and enhances the osteoblastic differentiation**
 ○Wada S, Kanzaki H, Tomonari H
 (Dept Orthodont, Sch Dent Med, Tsurumi Univ)
- P3-23 Histological analysis of gingival epithelium in tooth eruption and development of junctional epithelium**
 ○Fujikawa K, Fukushima M, Nakamura M
 (Dept Oral Anat Dev Bio, Sch Dent, Showa Univ)

P3-24 Oxidative stress produced in the periodontal tissue by orthodontic force elicit pain via activation or sensitization of TRPA1 on nociceptive nerve fibers

○Morii A^{1,2}, Miyamura Y^{1,3}, Sago-Ito M², Naniwa M¹, Hitomi S⁴, Gungigake K², Kuroishi K², Kawamoto T², Ono K¹

(¹Div Orofac Funct Orthodont, Kyushu Dent Univ; ²Div Physiol, Kyushu Dent Univ; ³Div Dent Radiol, Kyushu Dent Univ; ⁴Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent)

P3-25 Morphological influence of the osteoporosis and the bisphosphonates for rat maxillary gingiva

○Yoshimoto G, Kawashima W, Uemura M

(Dept Anat, Osaka Dent Univ)

P3-26 Morphological changes of the periodontal Ruffini endings in rats after induced apical periodontitis

○Tanzawa S¹, Kitamura K², Ishikawa N³, Tamiya Y¹, Furusawa M¹, Yamamoto H²

(¹Dept Endodont, Tokyo Dent Coll; ²Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll; ³Dept Forensic Odontol Anthropol, Tokyo Dent Coll)

Microbiology

P3-27 Function of protein in saliva: Focusing on the antifungal and drug-resistance breaking effects of lactoferrin and cystatin S

○Fukui K¹, Hara H¹, Ninomiya K^{1,2}, Kuwashima H¹, Imai A^{3,4}, Nakamura K¹

(¹Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ Niigata; ²Compr Dent, Niigata Hosp, Nippon Dent Univ; ³Dept Biochem, Nippon Dent Univ Niigata; ⁴Dept Dent Hyg, Nippon Dent Univ Coll Niigata)

P3-28 The effects of *Candida albicans* oral ingestion on intestinal microbial flora

○Hasebe A, Saeki A, Shibata K

(Dept Oral Mol Microbiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)

P3-29 Study on the prevention methods of fungemia in oral candidiasis mouse model with oral mucositis

○Ninomiya K¹, Katagiri H^{2,3}, Hara H¹, Fukui K¹, Kuwashima H¹, Haga-Tsujimura M^{2,3}, Nakahara K³, Nakamura K¹

(¹Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ Niigata; ²Dept Histol, Nippon Dent Univ Niigata; ³Adv Res Center, Nippon Dent Univ Niigata)

P3-30 Distribution of *Streptococcus sobrinus* from saliva in healthy students

○Shinozaki-Kuwahara N, Saito M, Hashizume-Takizawa T, Kobayashi R, Kurita-Ochiai T

(Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo)

P3-31 Bactericidal activity and cell toxicity of newly electrolytic reducing ionic water

○Katsuragi H

(Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Niigata)

P3-32 Basic study on antimicrobial effect of *Siraitia grosvenorii* extract on oral microorganisms

○Saito M, Shinozaki-Kuwahara N, Hashizume-Takizawa T, Kurita-Ochiai T

(Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo)

P3-33 Purification and analysis of fimbriae of *Prevotella nigrescens*

○Fujita M, Miyakawa H, Nagano K

(Div Microbiol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)

- P3-34 Analysis of diversity of virulence factors associated with oral streptococcal infection**
 ○Ishikawa Y, Saiki K, Tashiro Y, Yamanaka Y, Hayashida N, Takahashi Y
 (Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent Tokyo)
- P3-35 The effect of neutrophil elastase on MHC class II expression in pneumococcal pneumonia**
 ○Domon H^{1,2}, Maekawa T^{1,2}, Terao Y^{1,2}
 (¹Div Microbiol Infect Dis, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ²Res Center Adv Oral Sci, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ)
- P3-36 *Citrobacter koseri* induces IL-33 production in dendritic cells through ATP production**
 ○Kataoka H, Mori T, Into T
 (Dept Oral Microbiol, Fac Dent, Asahi Univ)
- P3-37 CvfA required for virulence factor expression and thermosensitive pilus production by serotype M49 *Streptococcus pyogenes***
 ○Kubota S, Nakata M, Hirose Y, Yamaguchi M, Sumitomo T, Kawabata S
 (Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
- P3-38 Exploration of T cell antigens of red complex bacteria causing periodontal disease in mice**
 ○Narita Y¹, Nagao J^{1,2}, Arita-Morioka K^{1,2}, Tasaki S¹, Negoro-Yasumatsu K¹, Tanaka Y^{1,2}
 (¹Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll; ²Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll)
- P3-39 *Gemella haemolysans* specifically inhibits the growth of *Porphyromonas gingivalis***
 ○Miyoshi T¹, Yoshinari N², Yoshida A¹
 (¹Dept Oral Microbiol, Matsumoto Dent Univ; ²Dept Periodont, Matsumoto Dental Univ)
- P3-40 THP-1 monocytes differentiate into dendritic cells after engulfment of *Streptococcus gordonii***
 ○Tashiro Y, Saiki K, Yamanaka Y, Ishikawa Y, Hayashida N, Konishi K, Takahashi Y
 (Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent Tokyo)
- P3-41 Exploring of a fructose glycolysis pathway in *Veillonella* spp**
 ○Mashima I^{1,2}, Nakazawa F³, Tamai R¹, Kiyoura Y¹
 (¹Div Oral Infect Immun, Sch Dent, Ohu Univ; ²Dept Microbiol, Sch Pharm, Aichi-Gakuin Univ; ³Dept Oral Biol, Sch Dent, Univ Indonesia, Indonesia)
- P3-42 The periodontopathic bacterium *Fusobacterium nucleatum* induced proinflammatory cytokine production in the lower respiratory organs in mice**
 ○Takahashi Y^{1,2}, Imai K²
 (¹Dept Complete Denture Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent)
- P3-43 The effect of bacterial lipopolysaccharide on the expression of angiogenic factors in HUVEC**
 ○Ishikawa T¹, Shimoyama Y¹, Kodama Y¹, Ogasawara M², Sasaki M¹
 (¹Div Mol Microbiol, Sch Dent, Iwate Med Univ; ²Dept Pharmacol, Sch Dent, Iwate Med Univ)

Anatomy

PM1-01 Correlation between missing tooth and tongue atrophy

○Takagi T¹, Ishiduka S¹, Kitamura K^{2,3}, Yamamoto M^{1,3}, Abe S^{1,3}
(¹Dept Anat, Tokyo Dent Coll; ²Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll; ³Res Branding Project, Tokyo Dent Coll)

PM1-02 Establishment of preventative approach to oral hypofunction in elderly

○To M, Liu YH, Wada-Takahashi S, Takahashi SS, Matsuo M
(Dept Oral Sci, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ)

PM1-03 (withdrawn)

PM1-04 Chronic inflammation impairs reconstitution capacity of hematopoietic stem cells

○Hayashi Y
(Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll)

PM1-05 The damaged periodontal ligament induces trigeminal mesencephalic and motor nuclei neurodegeneration 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 Sci)

PM1-06 Analyzing a mechanism that causes downregulated therapeutic effects of biliary atresia patient-derived-stem cells from human exfoliated deciduous teeth

○Sonoda S, Murata S, Kato H, Kyumoto Y, Uehara N, Kukita T, Yamaza T
(Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ)

Biochemistry

PM1-07 Bone morphogenetic protein 9 (BMP 9) induces the expression of Hes1 in osteoblasts: Analyses of its molecular mechanisms and functional roles

○Seong CH^{1,2}, Ohnishi T², Chiba N², Matsuguchi T²
(¹Dept Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci; ²Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)

PM1-08 Inhibition mechanism of osteoclast formation by glucan from baker's yeast mediated by dectin-1

○Hara S¹, Ariyoshi W², Yamasaki R², Yoshioka Y²
(¹Div Pediatr Dent, Kyushu Dent Univ; ²Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ)

PM1-09 Effects of bone resorption on osteoclasts

○Chiba-Ohkuma R, Karakida T, Yamakoshi Y
(Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ)

PM1-10 Zoledronate suppresses the differentiation of osteoclasts from human monocytes

○Takimoto R¹, Tanaka M^{1,2}, Yamada A², Miyamoto Y², Sasa K², Suzawa T², Yoshimura K², Takami M³, Kamijo R²
(¹Dept Oral Maxillofac Surg, Sch Dent, Showa Univ; ²Dept Biochem, Sch Dent, Showa Univ; ³Pharmacol Res Center, Showa Univ)

PM1-11 Mechanisms of Cdc42, Rho family low molecular G protein, during postnatal angiogenesis and bone formation

○Yoshida Y¹, Yamada A², Suzuki W³, Kamijo R², Iijima T¹

(¹Div Dent Anesthesiol, Sch Dent, Showa Univ; ²Dept Biochem, Sch Dent, Showa Univ; ³Div Prosthodont, Sch Dent, Showa Univ)

PM1-12 Long-term observation of sclerostin expression in BMP-induced ectopic bone

○Matsushita M¹, Koide M², Yoshizawa M¹, Horibe K³, Kobayashi Y², Yamashita T², Nakamichi Y², Uehara S⁴, Udagawa N⁴

(¹Dept Reconstr Surg Oral Maxillofac Reg, Grad Sch Oral Med, Matsumoto Dent Univ; ²Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ; ³Dept Oral Anat, Matsumoto Dent Univ; ⁴Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ)

PM1-13 Degradation of the endothelial glycocalyx in pulmonary edema caused by anti-MHC antibody administration

○Nishida R^{1,2}, Sasa K¹, Yamada A¹, Tanaka J³, Mishima K³, Iijima T², Kamijo R¹

(¹Dept Biochem, Sch Dent, Showa Univ; ²Div Dent Anesthesiol, Sch Dent, Showa Univ; ³Div Pathol, Dept Oral Diagn Sci, Sch Dent, Showa Univ)

PM1-14 Drug repositioning of midazolam in the induction of differentiation from C2C12 cells to osteoblasts

○Hidaka Y¹, Chiba-Ohkuma R², Karakida T², Yamamoto R², Fujii-Abe K¹, Saito MM², Yamakoshi Y², Kawahara H¹

(¹Dept Dent Anesthesiol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ)

PM1-15 New age estimation method according to DNA methylation using real-time methylation-specific PCR

○Ogata A, Kondo M, Aboshi H

(Dept Leg Med, Nihon Univ Sch Dent)

PM1-16 Identification of osteogenic factors in demineralized bone sheet

○Saito H^{1,2}, Yamamoto R², Shirai M¹, Chiba-Ohkuma R², Yamakoshi Y²

(¹Dept Removable Prosthodont, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ)

PM1-17 HUCPVC has the ability to differentiate into osteoblasts

○Nonoyama S¹, Karakida T², Yamamoto R², Nagano T¹, Yamakoshi Y², Gomi K¹

(¹Dept Periodont, Sch Dent Med, Tsurumi Univ; ²Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ)

Pathology

PM1-18 The role of Semaphorin 3A in the development of metal allergy

○Liu L, Watanabe M

(Dept Oral Maxillofac Prosthodont, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci)

PM1-19 Cellular senescence in salivary gland epithelial cells may induce the accumulation of senescence-associated T cells (SA-Ts) in murine submandibular glands

○Kurosawa M, Furukawa M, Matsushita K, Shikama Y

(Dept Oral Dis, Natl Center Geriatr Gerontol (NCGG))

PM1-20 The roles of TGF- β /SOX9 axis in the interactions between cancer-associated fibroblasts and oral squamous cell carcinoma cells

○Haga K^{1,2,3}, Yamazaki M³, Maruyama S³, Funayama A¹, Kobayashi T¹, Tanuma JI³

(¹Div Reconstructive Surg Oral Maxillofac Reg, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ²Div Biomater Sci, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ³Div Oral Pathol, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ)

PM1-21 Highly expressed mechanoreceptor TRPV4 in human oral squamous cell carcinoma regulates cancer cell growth via CaMKII/AKT signaling

○Tajiri Y^{1,2}, Fujii S¹, Kiyoshima T¹

(¹Sect Oral Pathol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Dent Oral Surg, Kyushu Med Center)

PM1-22 IFN- γ -triggered triptophan-IDO1-kynurenine-AhR signal activation induces immunologic tumor dormancy in human oral squamous cell carcinomas

○Anzai H^{1,2}, Yoshimoto S¹, Hiraki A², Hashimoto S¹

(¹Div Pathol, Fukuoka Dent Coll; ²Div Oral Oncol, Fukuoka Dent Coll)

PM1-23 The role for non-coding RNAs on pathogenesis of IgG4-related diseases

○Kimura S^{1,2}, Kawakubo-Yasukochi T¹, Nakamura S², Jimi E¹

(¹OBT Res Center, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Sect Oral Maxillofac Oncol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ)

Physiology

PM2-01 Mechano-sensitive ion channels of rat squamous cell carcinoma and their diffusible substances

○Ishizaki M¹, Matsunaga M^{1,2}, Yazaki T^{1,2}, Ohyama S¹, Kimura M¹, Shibukawa Y¹

(¹Dept Physiol, Tokyo Dental Univ; ²Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dental Univ)

PM2-02 Novel regulation of orofacial hemodynamics mediated by an interaction between oxytocin and parasympathetic vasodilation during trigeminal afferent inputs

○Ishikawa R, Sato T, Mito K, Ramadhani R, Ishii H

(Div Physiol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)

PM2-03 Differences in parasympathetic vasodilation between free and attached gingiva during trigeminal afferents stimulation in the rats

○Okada Y¹, Mito K², Saitoh M¹, Ishii H²

(¹Div Pediatr Dent, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ²Div Physiol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)

PM2-04 Postnatal changes of inhibitory synaptic inputs to the rat jaw-closing motoneurons

○Noguchi T¹, Nakamura S², Nakayama K², Mochizuki A², Dantsuji M², Inoue T²

(¹Div Oral Rehabil Med, Dept Spec Needs Dent, Sch Dent, Showa Univ; ²Dept Oral Physiol, Sch Dent, Showa Univ)

PM2-05 Changes in the conditioned taste aversion induced by a metallothionein defect and low zinc bait in mice

○Yasuura N¹, Inui T², Sogawa N³, Funahashi M²

(¹Dept Orthodont, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ²Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med; ³Dept Dent Pharmacol, Matsumoto Dent Univ)

PM2-06 Electrophysiological and morphological analysis of Phox2b-positive neurons situated in the parvocellular reticular nucleus in rats

○Kajiwara R^{1,2}, Nakamura S¹, Nakayama K¹, Mochizuki A¹, Dantsuji M¹, Tachikawa S², Iijima T², Inoue T¹

(¹Dept Oral Physiol, Sch Dent, Showa Univ; ²Div Dent Anesthesiol, Sch Dent, Showa Univ)

PM2-07 Mechanical stimulation-induced cell-to-cell communication in trigeminalganglion neurons

○Yazaki T¹, Ishizaki M¹, Matsunaga M¹, Ohyama S², Kuroda H³, Kimura M², Shibukawa Y², Ichinohe T¹

(¹Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dental Univ; ²Dept Physiol, Tokyo Dental Univ; ³Dept Crit Care Med Dent, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ)

PM2-08 Electrophysiological characteristics of the descending projection from the insular cortex to the parabrachial nucleus revealed by optogenetics

○Hirose K^{1,2}, Nakaya Y², Takei H¹, Shirakawa T¹, Kobayashi M²
(¹Dept Pediatr Dent, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent)

PM2-09 The exploitation of the new analysis method of the oral texture perception

○Nakatomi C¹, Horie S^{1,2}, Miyamura Y^{1,3}, Hitomi S⁴, Ono K¹
(¹Div Physiol, Kyushu Dent Univ; ²Div Orofac Funct Orthodont, Kyushu Dent Univ; ³Div Dent Radiol, Kyushu Dent Univ; ⁴Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent)

PM2-10 Effects of AMPA receptor positive allosteric modulator on initiation of swallows in anesthetized rats

○Yoshihara M, Nagoya K, Tsujimura T, Inoue M
(Div Dysphagia Rehabil, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ)

PM2-11 Physiological analysis of swallowing disorder caused by chronic obstructive pulmonary disease (COPD)

○Nagoya K, Tsujimura T, Yoshihara M, Inoue M
(Div Dysphagia Rehabil, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ)

PM2-12 Analysis of fluid secretion and gene expression of secretory proteins in aged mouse salivary gland

○Yamada M, Mukaibou T, Kondo Y, Munemasa T, Nodai T, Hori Y, Masaki C, Hosokawa R
(Div Oral Reconstr Rehabil, Kyushu Dent Univ)

PM2-13 Function of hyaluronic acid signaling in mouse taste organs

○Watanabe Y^{1,2}, Takai S¹, Shigemura N^{1,3}
(¹Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²Sect Implant Rehabil Dent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ³R&D Center for Five-Sense Devices, Kyushu Univ)

PM2-14 Effect of TRPV4 on oral mucosal wound healing and regulation of actomyosin cytoskeleton

○Yoshimoto RU¹, Aijima R², Gao WQ¹, Cao AL^{1,3}, Honda Y¹, Uchino K¹, Sawada T¹, Kiyoshima T³, Kido MA¹
(¹Div Histol Neuroanat, Fac Med, Saga Univ; ²Dept Oral Maxillofac Surg, Fac Med, Saga Univ; ³Sect Oral Pathol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ)

PM2-15 Effect of steroid ointment in an oral ulcer model rat

○Naniwa M^{1,2}, Nakatomi C¹, Hitomi S³, Matsuda K⁴, Ono K¹
(¹Div Physiol, Kyushu Dent Univ; ²Div Oral Health Sci, Kyushu Dent Univ; ³Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent; ⁴Daiichi Sankyo Healthcare Co, Ltd)

PM2-16 Butyric acid modulates periodontal mechanical sensitivity in periodontitis in mice

○Murakami N^{1,2}, Sato S¹, Iwata K², Shinoda M²
(¹Dept Periodontol, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent)

Pharmacology

PM2-17 (withdrawn)

PM2-18 Quantitative fluorescence imaging analysis of tooth pulp regeneration in primate model

○Toida Y, Sato T, Iimura T
(Dept Mol Cell Pharmacol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)

PM2-19 Teriparatide administration augments the linearity of bone collagen fibers-quantitative collagen topology analyses by an advanced nonlinear optics imaging-

○Sato T, Toida Y, Iimura T
(Dept Mol Cell Pharmacol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)

PM2-20 Development of fluorescent biosensors using competitive FRET analyses

○Jahan A, Nezu A, Tanimura A
(Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)

PM2-21 Therapeutic effects of laser irradiation on tooth movement-related pain -Investigation for biological effect and action mechanism-

○Tsuchiya T¹, Yugawa M², Suda N², Adachi K³
(¹Div Endodont Oper Dent, Meikai Univ Sch Dent; ²Div Orthodont, Meikai Univ Sch Dent; ³Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent)

PM2-22 Effect of laser irradiation on experimental orthodontic force-induced pain -Relationship with satellite glial GFAP expression in trigeminal ganglia-

○Yugawa M¹, Tsuchiya T², Suda N¹, Adachi K³
(¹Div Orthodont, Meikai Univ Sch Dent; ²Div Endodont Oper Dent, Meikai Univ Sch Dent; ³Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent)

PM2-23 The mechanism of small G protein, Cdc42-dependent acinar cells formation in lacrimal gland

○Nagase H, Shitara A, Ohno Y, Kashimata M
(Dept Pharmacol, Fac Dent, Asahi Univ)

PM2-24 Analysis of acetylcholine-induced salivary secretion in different AQP5 expression rat strains

○Akter T, Nezu A, Tanimura A
(Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)

PM2-25 Effect of phenytoin on the regulation of intracellular calcium concentrations in human gingival fibroblasts

○Minowa E¹, Kurashige Y¹, Nezu A², Saitoh M¹, Tanimura A²
(¹Div Pediatr Dent, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ²Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)

PM2-26 Enhancement of spontaneous Ca²⁺ oscillation by co-culture of odontogenic epithelial cell line and dental pulp stem cells

○Ishida N, Murata K, Tanimura A
(Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)

PM2-27 ATP-induced Ca²⁺ elevations in rat glioma C6 cells at cell body and processes

○Goh K¹, Nezu A², Terumitsu M¹, Tanimura A²
(¹Div Dent Anesthesiol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ²Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)

PM2-28 Antitumor effect of novel ligands for the telomere structure in mice

○Fukuda H^{1,2}, Higashi S¹, Takeuchi H¹
(¹Div Appl Pharmacol, Kyushu Dent Univ; ²Div Oral Maxillofac Surg, Kyushu Dent Univ)

PM2-29 Effects of anti-RANKL antibody and zoledronate on apical periodontitis development in model mice

○Ikeda M^{1,2,3}, Takizawa H^{2,3,4}, Karakawa A^{2,3}, Sakai N^{2,3}, Chatani M^{2,3}, Azetsu Y^{2,3}, Suzuki N¹, Takami M^{2,3}
(¹Div Endodont, Dept Conserv Dent, Sch Dent, Showa Univ; ²Dept Pharmacol, Sch Dent, Showa Univ; ³Pharmacol Res Center, Showa Univ; ⁴Dept Orthod, Sch Dent, Showa Univ)

PM2-30 Comparison of tissue oxygenation in local anesthetics on stellate ganglion block

○Yasuda M¹, Kuroda H¹, Wada-Takahashi S², Takahashi SS²

(¹Dept Crit Care Med Dent, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ; ²Dept Oral Sci, Grad Sch Dent, Kanagawa Dent Univ)

PM2-31 Inhibitory effect of local anesthetics on the muscarinic receptors-mediated Ca²⁺ release from intracellular stores

○Shimatani M¹, Nezu A², Tanimura A²

(¹Div Reconstructive Surg Oral Maxillofac Reg, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ²Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)

Histology and Embryology

PM3-01 Establishment of live imaging method of palatal shelves during secondary palate development in mouse

○Nagasaka A¹, Sakiyama K¹, Bando Y¹, Ogasawara Y^{1,2}, Onozawa G^{1,3}, Amano O¹

(¹Div Anat, Meikai Univ Sch Dent; ²Div Oral Maxillofac Surg 2, Meikai Univ Sch Dent; ³Div Oral Maxillofac Surg 1, Meikai Univ Sch Dent)

PM3-02 (withdrawn)

PM3-03 Osteoblast differentiation of Gli1-positive cells in periodontal ligament during orthodontic tooth movement

○Seki Y^{1,2}, Takebe H¹, Mizoguchi T³, Irie K⁴, Hosoya A¹

(¹Div Histol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ²Div Orthod Dentofac Orthop, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ³Oral Health Sci Center, Tokyo Dent Coll; ⁴Div Anat, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)

PM3-04 (withdrawn)

PM3-05 Role of osteopontin in the process of pulpal healing following tooth replantation in mice

○Suzuki K¹, Makishi S¹, Nakatomi M², Saito K¹, Ida-Yonemochi H¹, Ohshima H¹

(¹Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ²Div Anat, Kyushu Dent Univ)

PM3-06 Transcriptional co-activator Smad4 regulates the fate of dental epithelial cells in adult mouse incisors

○Machiya A^{1,2,3}, Suda N², Katagiri T¹

(¹Div Biomed Sci, Res Center Genom Med, Saitama Med Univ; ²Div Orthodont, Meikai Univ Sch Dent; ³Div Oral Rehabil, Meikai Univ Sch Dent)

PM3-07 Transcriptome profiling of tooth germ using single-cell RNA-sequencing

○Chiba Y¹, Wang X¹, Yoshioka N¹, Fukumoto S²

(¹Div Pediatr Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent; ²Sect Pediatr Dent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ)

PM3-08 Factors secreted from dental pulp stem cells show multifaceted benefits for treating experimental temporomandibular joint osteoarthritis

○Kano F, Yamamoto A

(Dept Anat Histol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci)

PM3-09 The effect of TRPV4 deletion in bone and cartilage

○Uchino K^{1,2,3}, Yoshimoto RU¹, Gao WQ¹, Honda Y¹, Makino M¹, Sawada T¹, Yamashita Y², Kido MA¹

(¹Div Histol Neuroanat, Fac Med, Saga Univ; ²Dept Oral Maxillofac Surg, Fac Med, Saga Univ; ³JSPS Research Fellow)

PM3-10 Human dental pulp stem cell-derived extracellular vesicles prevent the functional damage caused by irradiated salivary gland

○Dong J, Sakai K, Koma Y, Watanabe J, Hibi H
(Dept Oral Maxillofac Surg, Nagoya Univ Grad Sch Med)

PM3-11 Localization of subtilisin-like proprotein convertase PACE4 in the course of development of the rat submandibular gland

○Sato T^{1,2}, Yao C³, Hasegawa T³, Yoshimura H³, Akamatsu T²
(¹Div Biores Sci, Grad Sch Sci Technol Innov, Tokushima Univ; ²Field Biomol Func Technol, Grad Sch Technol Industr Soc Sci, Tokushima Univ; ³Dept Mol Oral Physiol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci)

Microbiology

PM3-12 Antibacterial, anti-inflammatory and periodontal bone loss inhibitory activity of hinokitiol in ligature-induced experimental periodontitis in murine

○Hiyoshi T^{1,2}, Domon H^{1,3}, Maekawa T^{1,2,3}, Tamura H^{1,2,3}, Kunitomo E⁴, Terao Y^{1,3}
(¹Div Microbiol Infect Dis, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ²Div Periodontol, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ³Res Center Adv Oral Sci, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ⁴Central R&D Lab, Kobayashi Pharm Co, Ltd)

PM3-13 EBV LMP1 in gingival epithelium potentially contributes to human chronic periodontitis via inducible IL8 production

○Watanabe N¹, Yokoe S^{1,2}, Sato S¹, Imai K²
(¹Dept Periodontol, Nihon Univ Sch Dent; ²Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent)

PM3-14 Nasal vaccination with GroEL plus CpG ODN inhibits *P. gingivalis*-induced inflammation and alveolar bone loss

○Chang E¹, Kobayashi R², Kurita-Ochiai T²
(¹Dept Oral Surg, Nihon Univ Sch Dent Matsudo; ²Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent Matsudo)

PM3-15 Ionic water released from S-PRG filler effects oral microbial growth

○Kono Y^{1,2}, Tamura M^{3,4}, Imai K^{3,4}
(¹Div Oral Struct Funct Sci, Nihon Univ Grad Sch Dent; ²Dept Oral Maxillofac Surg, Nihon Univ Sch Dent; ³Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent; ⁴Div Immunol Pathobiol, Dent Res Center, Nihon Univ Sch Dent)

PM3-16 Characterization of bacterial membrane vesicles induced by glycine - Development of mucosal adjuvant for periodontal bacterial vesicle vaccine -

○Hirayama S, Nakao R
(Dept Bacteriol I, Natl Inst Infect Dis)

PM3-17 A novel strategy for preventing dental caries focusing on bacterial biofilms

○Arita-Morioka K^{1,2}, Nagao J^{1,2}, Narita Y^{1,2}, Negoro-Yasumatsu K¹, Tasaki S¹, Tanaka Y^{1,2}
(¹Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll; ²Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll)

PM3-18 Identification of non-oral bacteria on the tongue dorsum of frail elderly adults

○Asakawa M¹, Takeshita T^{1,2}, Kageyama S¹, Yamashita Y¹
(¹Sect Prev Dent Publ Health, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ; ²OBT Res Center, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ)

PM3-19 Non-hematogenous pneumococcal dissemination to brain tissue

○Takahara Y^{1,2}, Sumitomo T¹, Yamaguchi M¹, Nakata M¹, Kawabata S¹
(¹Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent; ²Dept Fixed Prosthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent)

PM3-20 Relationship between periodontitis severity and combination of abundance and diversity of subgingival plaque-specific bacteria in salivary microbiota

○Ma J, Kageyama S, Takeshita T, Asakawa M, Yamashita Y
(Sect Prev Dent Publ Health, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ)

PM3-21 The pineal gland hormone melatonin regulates the activation of innate immune cells through the regulation of mitochondrial function

○Kikuchi M^{1,2}, Kadana M^{2,3}, Kuwata H²
(¹Dept Community-Based Compr Dent, Grad Sch Dent, Showa University; ²Dept Microbiol Immunol, Sch Dent, Showa Univ; ³Div Dent Persons Disabil, Dept Spec Needs Dent, Sch Dent, Showa Univ)

PM3-22 Genetic mutation of aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) and asthma

○Makino M, Yoshimoto RU, Gao WQ, Honda Y, Uchino K, Sawada T, Kido MA
(Div Histol Neuroanat, Fac Med, Saga Univ)

PM3-23 The role of PD-1/PD-L1 signaling in the zymosan-induced immune paralysis

○Ao X^{1,2}, Azuma M¹, Nagai S¹
(¹Dept Mol Immunol, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ; ²Dept Pulp Biol Endodont, Grad Sch Med Dent, Tokyo Med Dent Univ)

PM3-24 The roles of intracellular signals in chondrogenic differentiation of ATDC5 cell line

○Okita K^{1,2}, Ariyoshi W², Yoshioka Y², Yamasaki R², Hikiji H¹
(¹Sch Oral Health Sci, Kyushu Dent Univ; ²Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ)

PM3-25 Mechanisms involved in suppression of osteoclast supportive activity by TGF- β 1

○Inoue M^{1,2}, Kawamoto T², Ariyoshi W¹
(¹Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ; ²Div Orofac Funct Orthodont, Kyushu Dent Univ)

PM3-26 Erythromycin regulates bone metabolism at the site of inflammation through induction of Del-1

○Tamura H^{1,2,3}, Maekawa T^{1,2}, Domon H^{1,2}, Hiyoshi T^{1,3}, Maeda T², Terao Y^{1,2}
(¹Div Microbiol Infect Dis, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ²Res Center Adv Oral Sci, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ; ³Div Periodontol, Grad Sch Med Dent Sci, Niigata Univ)

Poster Presentations by Undergraduate Students

- PS-01 Inhibitory effect of probiotics on periodontal disease**
○Nakamura M^{1,2}, Ryo N^{1,2}, Nagao J^{2,3}, Tanaka Y^{2,3}
(¹Undergrad res student prog, Fukuoka Dent Coll; ²Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll; ³Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll)
- PS-02 Candidalysin-induced early innate epithelial response via released IL-1 α**
○Hanaoka M¹, Domae E²
(¹Sch Dent, Osaka Dent Univ; ²Dept Biochem, Osaka Dent Univ)
- PS-03 Elevated expression and its functional analysis of novel cancer-related gene in ameloblastoma**
○Ishibashi T¹, Fujii S², Kiyoshima T²
(¹Sch Dent, Kyushu Univ; ²Sect Oral Pathol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ)
- PS-04 Behavioral analysis of chemical sensation in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) and senescence-accelerated mouse resistant 1 (SAMR1)**
○Kuraki M¹, Inui-Yamamoto C², Abe M², Wakisaka S²
(¹Sch Dent, Osaka Univ; ²Dept Oral Anat Dev Biol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
- PS-05 Functional analysis of Semaphorin3a signaling, which is an axonal guidance factor, in salivary gland development**
○Fujimoto T^{1,2}, Fujii S², Kiyoshima T²
(¹Sch Dent, Kyushu Univ; ²Div Oral Med Pathol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ)
- PS-06 Immunolocalization of endomucin-reactive blood vessels and CD44 in enamel organs of murine mandibular incisors**
○Koshiishi R, Hongo H, Amizuka N, Hasegawa T
(Dept Dev Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
- PS-07 Oral microbiota analyzing system: Profiling by PCR-RFLP method**
○Kawachi M¹, Maruyama S¹, Masuda N¹, Sano H^{2,3}, Wakui A², Yamaki K⁴, Washio J⁴, Takahashi N⁴, Sato T²
(¹Div Clin Chem, Sch Health Sci, Niigata Univ; ²Div Clin Chem, Sch Health Sci, Niigata Univ; ³Dept Pathol, Nippon Dent Univ Niigata; ⁴Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
- PS-08 Screening and analysis of human oral bacteria that inhibits growth of periodontal pathogenic bacteria *Porphyromonas gingivalis***
○Ikemoto R^{1,2}, Nakamura M^{1,2}, Nagao J^{2,3}, Arita-Morioka K^{2,3}, Tanaka Y^{2,3}
(¹Undergrad res student prog, Fukuoka Dent Coll; ²Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll; ³Oral Med Res Center, Fukuoka Dent Coll)
- PS-09 Analysis of anti-aging effects by the Japanese butterbur leaf extracts**
○Sakurai N, Shibutani S, Saito K, Kawasaki H, Takada A, Arakawa T
(Div Biochem, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)
- PS-10 Ultra short-time method for tissue clearing and its application to cancer diagnosis and drug development**
○Kanakubo C¹, Yokoyama M¹, Shimatani M², Yoshida K³, Abiko Y³, Tanimura A⁴
(¹6th year undergraduate, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ²Div Reconstructive Surg Oral Maxillofac Reg, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ³Div Oral Med Pathol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido; ⁴Div Pharmacol, Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)

演者索引



JAOB JAPANESE ASSOCIATION FOR
ORAL BIOLOGY since 1959

演者索引

AD 先端歯学国際教育研究ネットワーク・シンポジウム	CS 日本学術会議シンポジウム
BS 日本骨形態計測学会合同シンポジウム	ES 教育セミナー
DS 日本歯科理工学会共催シンポジウム	JR 歯科基礎医学会学会奨励賞受賞講演会
IRS イノベーション・ロードマップ・シンポジウム	P 一般演題 (ポスター)
MS メインシンポジウム	○ 一般演題 (口演)
PL 特別講演・市民公開講座	PM モリタ優秀発表賞応募ポスター
SL ロッテ基金特別講演	US アップデートシンポジウム
○発表者となっている演題	PS 学部学生ポスター
	WS Web セミナー

A

Abe, M	PS-04		
Abe, M	US6-4	○O4-03	
Abe, S	P2-05	P3-17	PM1-01
Abiko, Y	US7-2	US7-4	
	○US11-2	P2-33	PS-10
Aboshi, H	PM1-15		
Adachi, K	PM2-21	PM2-22	
Addison, WN	P1-32	P1-35	
Aijima, R	PM2-14		
Akamatsu, T	PM3-11		
Akashi, Y	P2-36		
Akter, T	○PM2-24		
Alharatani, R	US2-2		
Amano, K	P2-07		
Amano, O	O5-01	O5-02	PM3-01
Amano, S	P2-20		
Amizuka, N	US1-4	O4-03	P1-02
	P1-13	PS-06	
Ando, E	○P2-18		
Ando, M	P1-37	○P1-40	P1-41
Anzai, H	O6-05	○PM1-22	
Aoki, K	○BS-3	○US1-1	
Aoki, T	○P1-27		
Aoto, K	○O5-08		
Ao, X	○PM3-23		
Aoyama, E	○O4-06		
Arai, H	P3-15		
Arai, Y	P1-03	P1-08	
Arakawa, T	PS-09		
Arita-Morioka, K	O2-06	P1-19	P1-22
	P3-38	○PM3-17	PS-08
Ariyoshi, W	P3-03	PM1-08	PM3-24
	PM3-25		

Asada, Y	P3-01
Asakawa, M	○PM3-18 PM3-20
Azetsu, Y	PM2-29
Azuma, M	O2-08 O2-09 P1-15
	PM3-23
Azumane, M	P3-20

B

Baba, M	○PL
Bandow, K	P2-20
Bando, Y	○JR-4 O5-01 O5-02
	PM3-01
Beleza-Meireles, A	US2-2
Bimedekhgui, G	O3-04

C

Cao, AL	PM2-14
Chang, E	○PM3-14
Chatani, M	PM2-29
Chiba, N	○P1-06 P1-07 PM1-07
Chiba-Ohkuma, R	US6-2 ○PM1-09 PM1-14
	PM1-16
Chiba, T	P3-18
Chiba, Y	○WS-5 ○PM3-07
Chihara, E	P1-37
Chikira, M	○O1-08
Chosa, N	P1-27
Chujo, T	○P2-36

D

Dantsuji, M	○JR-2 PM2-04 PM2-06
Dhar, A	○PM1-05
Domae, E	PS-02

Domon, H ○P3-35 PM3-12 PM3-26
 Dong, J ○PM3-10
 Dong, J P2-32

E

Eguchi, T ○US5-5
 Ehara, M P1-38
 Ejiri, S ○BS-1

F

Fatma, R US1-1
 Feng, Y MS5-2
 Fu, O MS1-4
 Fujii-Abe, K PM1-14
 Fujii, H O2-07
 Fujii, N O1-03
 Fujii, S ○IRS-3 PM1-21 PS-03
 PS-05
 Fujikawa, K US5-3 P1-09 ○P3-23
 Fujimoto, T ○PS-05
 Fujimoto, T ○P2-17
 Fujita, M ○P3-33
 Fujita, S P1-39
 Fujita, T P1-25
 Fujita, T US4-3
 Fujita-Yoshigaki, J US4-2 ○O6-02
 Fujiwara, K O4-02
 Fukuda, C US1-4
 Fukuda, H ○PM2-28
 Fukuda, S ○MS4-2
 Fukui, K ○P3-27 P3-29
 Fukumoto, S WS-2 WS-5 PM3-07
 Fukushima, M ○US5-3 P1-09 P3-23
 Funahashi, M PM2-05
 Funato, N ○P1-04
 Funayama, A PM1-20
 Furukawa, M MS2-2 PM1-19
 Furusawa, M P3-26
 Furuta, T O1-04 ○P2-16

G

Gao, J O3-02
 Gao, WQ PM2-14 PM3-09 PM3-22

Garidkhuu, A O3-04
 Gengyo-Ando, K US10-5
 Goda, S P3-02
 Goh, K ○PM2-27
 Gojo, N ○P3-08
 Gomi, K O1-11 PM1-17
 Goto, A ○P1-32 P1-35
 Goto, T ○MS2-3 ○US11-3 P2-13
 PM1-05
 Goto-Matsumoto, N WS-4
 Gu, JY P1-10 P1-12 ○P1-14
 Gungigake, K P3-24

H

Haga, K ○PM1-20
 Haga-Tsujimura, M P3-29
 Hanaoka, M ○PS-02
 Han, S ○US7-4
 Harada, H WS-1 WS-4 P3-15
 P3-20
 Harada, S MS1-1
 Hara, H P3-27 P3-29
 Hara, M O4-01
 Hara, S ○PM1-08
 Hase, K US1-2
 Hasebe, A P1-23 ○P3-28
 Hasegawa, M ○O1-03
 Hasegawa, T PM3-11
 Hasegawa, T ○JR-3 US1-4 ○US6-4
 O4-03 P1-02 P1-13
 PS-06
 Hashimoto, S O6-05 PM1-22
 Hashizume-Takizawa, T P1-24 P3-30 P3-32
 Hatano, Y O3-04
 Hattori, T US5-6
 Hayakawa, Y US8-3 O1-09 ○O1-10
 O1-11 P3-01
 Hayashida, N P3-34 P3-40
 Hayashi, Y ○PM1-04
 Hibi, H P2-32 PM3-10
 Hidaka, K P2-07
 Hidaka, Y US6-2 ○PM1-14
 Hida, K P1-36
 Higashino, F P1-36
 Higashi, S P2-18 PM2-28

Higashiyama, H	US2-3			Ikegame, M	US5-6	O2-05		
Hikiji, H	PM3-24			Ikemoto, R	○PS-08			
Hino, S	P1-43	P2-20		Ikeno, K	P1-40	P1-41	P3-09	
Hiraki, A	PM1-22			Ikezaki, S	WS-4	P3-15	○P3-20	
Hirata, M	○US9-2	AD-1	P1-01	Imai, A	○P2-34	P3-27		
	P2-18	P3-05		Imai, K	P1-44	P3-21	P3-42	
Hiratsuka, K	P1-30				PM3-13	PM3-15		
Hirayama, S	○PM3-16			Inaba, A	○P3-15			
Hirohashi, Y	US1-1			Inaba, K	P2-07			
Hiroi, M	P1-18			Inai, T	AD-1			
Hirose, F	MS3-3			Inokawa, H	US8-2			
Hirose, K	IRS-2	O3-03		Inomata, M	○P1-17			
Hirose, K	○PM2-08			Inoue, A	○O3-02			
Hirose, Y	P3-37			Inoue, H	○P3-02			
Hirouchi, H	P2-05			Inoue, K	○P1-02			
Hitomi, S	P3-24	PM2-09	PM2-15	Inoue, M	PM2-10	PM2-11		
Hiura, H	○P1-10	P1-12	P1-14	Inoue, M	P2-21			
Hiyoshi, T	○PM3-12	PM3-26		Inoue, M	○PM3-25			
Hoang, TV	US2-3			Inoue, S	US5-3	○P1-09		
Honda, Y	PM2-14	PM3-09	PM3-22	Inoue, T	JR-2	PM2-04	PM2-06	
Honma, M	BS-3	US1-1		Into, T	P1-17	P1-21	P1-23	
Hongo, H	O4-03	P1-13	PS-06		P3-36			
Horibe, K	○O4-01	PM1-12		Inui, T	PM2-05			
Horie, N	P1-43	P2-20		Inui-Yamamoto, C	PS-04			
Horie, S	PM2-09			Irie, K	PM3-03			
Hori, Y	PM2-12			Irie, T	P1-31			
Hosey, MT	US2-2			Iseki, S	○US2-3			
Hosokawa, R	PM2-12			Ishibashi, T	○PS-03			
Hosoya, A	PM3-03			Ishida, N	○PM2-26			
Hotta, M	P3-09	P3-10		Ishiduka, S	PM1-01			
				Ishihara, K	O2-02			
				Ishii, H	P2-35	PM2-02	PM2-03	
				Ishikawa, K	○DS-2			
				Ishikawa, M	O1-09	O1-10	O1-11	
Ibi, M	P1-31				P3-01			
Ichikawa, H	P2-09	P2-22			P3-17	P3-26		
Ichinohe, T	PM2-07			Ishikawa, N	P2-35	○PM2-02		
Ida-Yonemochi, H	○P3-14	PM3-05		Ishikawa, R	○P3-43			
Ideno, H	○P1-03	P1-08		Ishikawa, T	○P3-34	P3-40		
Igarashi, K	P1-34			Ishikawa, Y	AD-2	P1-20		
Igarashi, Y	○P2-01			Ishimaru, N	P1-27			
Iijima, T	PM1-11	PM1-13	PM2-06	Ishisaki, A	○PM2-01	PM2-07		
Iijima, Y	P1-43	○P2-20		Ishizaki, M	○O3-01			
Iimura, T	○MS5-3	PM2-18	PM2-19	Isono, K	○O3-01			
Ikai, K	P3-08			Ito, A	US8-3	○O1-09	O1-10	
Ikebuchi, Y	BS-3	US1-1			O1-11	P3-01		
Ikeda, M	○PM2-29							

Iwai, H	PM1-05	Katagiri, A	US8-1	○O1-05
Iwai, Y	MS1-4	Katagiri, H	P3-29	
Iwase, A	US2-3	Katagiri, T	PM3-06	
Iwata, K	PM2-16	Kataoka, H	P1-21	○P3-36
Iwata, S	○P2-21	Katase, N	○P1-39	
Iwata, T	US3-4	Kato, H	O5-04	PM1-06
		Kato, T	US8-1	O1-01 O1-02

J

Jahan, A	○PM2-20
Ji, W	US2-2
Jiang, P	MS1-2
Jimi, E	○DS-1 AD-1 O3-02
	P1-01 P3-05 PM1-23

K

Kadena, M	PM3-21	Kato, Y	P2-38
Kadowaki, T	○MS5-1	Katsumata, A	US3-4
Kageyama, I	US3-3	Katsumata-Kato, O	US4-2 O6-02
Kageyama, S	○US7-3 PM3-18 PM3-20	Katsuragi, H	○P3-31
Kajiura, K	P3-16	Kawabata, S	P3-37 PM3-19
Kajiwara, K	○P1-25	Kawabata, Y	○P2-24
Kajiwara, M	○O1-06	Kawachi, M	US7-2 ○PS-07
Kajiwara, R	○PM2-06	Kawahara, H	O1-10 PM1-14
Kajiya, H	WS-3	Kawai, T	US7-1
Kamijo, R	JR-1 PM1-10 PM1-11	Kawaki, H	P1-37 P1-40 P1-41
	PM1-13		P3-09 P3-10 P3-16
Kamioka, H	O2-05	Kawakubo-Yasukochi, T	○P1-01 P1-42 P3-05
Kamiya, M	○P1-37 P1-40 P1-41		PM1-23
	P3-09 P3-10	Kawamoto, T	P3-24 PM3-25
Kamo, M	P1-27	Kawano, S	P3-16
Kanakubo, C	○PS-10	Kawasaki, H	PS-09
Kanamura, N	US8-2	Kawasaki, S	○O1-07
Kaneko, M	P2-01	Kawashima, W	US3-1 P3-25
Kaneko, R	P2-38	Kawato, T	P1-11 P1-26
Kaneko, T	P1-43 P2-20	Khan, M	BS-3 US1-1
Kanematsu, T	P2-26	Khokha, M	US2-2
Kano, F	○O4-04 ○PM3-08	Kido, H	O2-06
Kanou, T	US3-4	Kido, MA	PM2-14 PM3-09 PM3-22
Kanzaki, H	P3-22	Kikuchi, M	○PM3-21
Karakawa, A	PM2-29	Kikuchi, N	○P3-17
Karakida, T	○US6-2 PM1-09 PM1-14	Kimura, M	PM2-01 PM2-07
	PM1-17	Kimura, S	○US1-2
Kasahara, N	P3-17	Kimura, S	P1-01 ○PM1-23
Kashimata, M	US4-4 US4-5 O6-01	Kishimoto, S	O1-05
	PM2-23	Kitagawa, N	AD-1 ○P2-08
		Kitamura, K	US1-3
		Kitamura, K	P3-17 P3-26 PM1-01
		Kitazawa, T	US2-3
		Kiyomoto, K	O1-10 O1-11
		Kiyoshima, T	IRS-3 PM1-21 PM2-14
			PS-03 PS-05
		Kiyoura, Y	O5-06 P3-41

Kobashi, M	○P2-12			Kuroishi, K	P3-24		
Kobayashi, M	○US10-3	O1-06	O1-07	Kurosaka, H	○US2-1		
	O1-08	PM2-08		Kurosawa, M	MS2-2	○PM1-19	
Kobayashi, R	P1-16	○P1-24	P3-30	Kuroshima, S	○BS-4		
	PM3-14			Kusuyama, J	○O4-07		
Kobayashi, T	PM1-20			Kuwashima, H	P3-27	P3-29	
Kobayashi, Y	PM1-12			Kuwata, H	PM3-21		
Kodama, Y	P3-43			Kuyama, K	P2-03		
Koide, M	US1-3	PM1-12		Kyumoto, Y	O5-04	P1-10	P1-12
Koike, N	US8-2				P1-14	PM1-06	
Koike, R	○P1-44						
Kojima, H	P1-19			L			
Kojima, T	○P2-38			Lakhani, SA	US2-2		
Kokabu, S	P1-32	P1-35		Liu, A	US2-2		
Kokubun, K	P2-36			Liu, KJ	○US2-2		
Komatsu, K	P1-03	○P1-08		Liu, K	P2-32		
Koma, Y	○P2-32	PM3-10		Liu, L	○PM1-18		
Komori, T	O3-03			Liu, YH	○P2-04	PM1-02	
Kondoh, N	P1-37	P1-40	P1-41	Lu, W	US1-1		
	P3-09	P3-10	P3-16	Luo, Y	US7-4		
Kondo, M	PM1-15			M			
Kondo, S	P2-01			Machiya, A	○PM3-06		
Kondo, Y	PM2-12			Maeda, N	US7-1		
Kondoh, K	MS1-4			Maeda, S	US4-5		
Konishi, K	P3-40			Maeda, T	PM3-26		
Kono, T	P1-16	P3-13		Maeda, T	P2-38		
Kono, Y	○PM3-15			Maejima, K	O3-05		
Konstantino, M	US2-2			Maekawa, T	○AD-3	P3-35	PM3-12
Kosaka, M	O3-04				PM3-26		
Koshiishi, R	○PS-06			Maishi, N	P1-36		
Koyanagi, E	MS1-1			Ma, J	○PM3-20		
Kubota, S	US5-6	O4-06	O5-03	Makino, M	PM3-09	○PM3-22	
Kubota, S	○P3-37			Makishi, S	PM3-05		
Kudo, Y	AD-2			Mao, D	P3-02		
Kukita, A	P1-10	P1-12	P1-14	Margolskee, RF	MS1-2		
Kukita, T	O5-04	P1-10	P1-12	Maruoka, H	P1-02		
	P1-14	PM1-06		Maruyama, H	P2-32		
Kunitomo, E	PM3-12			Maruyama, S	PM1-20		
Kuraki, M	○PS-04			Maruyama, S	US7-2	PS-07	
Kuramoto, E	P2-13	○PM1-05		Masaki, C	PM2-12		
Kurashige, Y	PM2-25			Mashima, I	O5-06	○P3-41	
Kurihara, H	US2-3			Masuda, N	US7-2	PS-07	
Kurita-Ochiai, T	P1-16	P1-24	P3-30	Matsubara, T	P1-32	P1-35	
	P3-32	PM3-14					
Kuroda, H	PM2-07	PM2-30					

Nakamura, M	US5-3	P1-09	P3-23	Nodai, T	PM2-12
Nakamura, M	○US11-1			Noda, M	P1-27
Nakamura, M	US1-3			Noguchi, T	○PM2-04
Nakamura, S	JR-2	○CS-2	PM2-04	Nonoyama, S	○PM1-17
	PM2-06				
Nakamura, S	P1-01	P1-42	PM1-23	O	
Nakamura, T	US10-4	○WS-2		Ochiai, T	P1-38
Nakamura, Y	O4-02			Ogasawara, M	○P1-31 P3-43
Nakamura, Y	US1-2			Ogasawara, Y	○O5-01 O5-02 PM3-01
Nakanishi-Matsui, M	WS-4			Ogata, A	○PM1-15
Nakano, T	○BS-5			Ogata, K	WS-1
Nakao, J	○P1-38			Ogawa, K	○US4-5
Nakao, R	PM3-16			Ogawa, Y	P3-17
Nakashima, K	P1-03	P1-08		Ohara, N	P1-28
Nakata, M	P3-37	PM3-19		Ohashi, A	O4-02 ○P1-29
Nakatomi, C	O3-02	○PM2-09	PM2-15	Ohkubo, C	US7-1
Nakatomi, M	O3-02	PM3-05		Ohkura, M	US10-5
Nakayama, K	JR-2	PM2-04	PM2-06	Ohmori, Y	P1-18
Nakayama, K	O2-01	P1-28		Ohnishi, T	O4-07 P1-06 P1-07
Nakayama, M	○P1-28				PM1-07
Nakayama, M	○P2-03			Ohno, Y	○US4-4 US4-5 O6-01
Nakayama, N	P1-43	P2-20			PM2-23
Nakaya, Y	O1-07	PM2-08		Ohnuki, Y	US8-3 O1-09 O1-10
Nakazawa, F	P3-41				O1-11 P3-01
Naniwa, K	○O3-03			Oho, T	O2-04
Naniwa, M	P3-24	○PM2-15		Ohshima, H	○ES ○US6-1 O3-02
Narita, Y	O2-06	P1-19	P1-22		P3-14 PM3-05
	○P3-38	PM3-17		Ohshima, T	US7-1
Nariyama, M	○P3-01			Ohuchi, H	US4-1
Nashida, T	P2-30			Ohyama, S	PM2-01 PM2-07
Negoro-Yasumatsu, K	○O2-06	P1-19	P1-22	Okabe, K	WS-3 O3-02
	P3-38	PM3-17		Okada, H	P1-16 P3-13
Nezu, A	US10-1	P2-27	○P2-29	Okada, Y	US7-2 P2-31
	PM2-20	PM2-24	PM2-25	Okada, Y	○PM2-03
	PM2-27	PM2-31		Oka, K	○WS-1
Nifuji, A	P1-03	P1-08		Okamoto, F	WS-3
Niiyama, T	P1-36			Okamoto, K	○MS5-2 US5-5
Nikaidoh, T	P3-10			Okamoto, K	O1-03
Ninomiya, K	P3-27	○P3-29		Okamura, H	US5-4 US5-6 O2-05
Ninomiya, T	○O4-02			Okamura, K	O6-05
Ninomiya, Y	MS1-2	P2-21	P3-04	Oka, S	P1-11
Nishida, R	○PM1-13			Oka, S	P2-34
Nishida, T	○O5-03			Okita, K	○PM3-24
Nishihara, T	P3-03			Okuhara, S	O2-08
Nishitani, Y	P1-34			Okumura, M	O3-03

Shigemura, N	○MS3-3	○US10-2		Suwabe, T	P2-23	○P2-25	
	MS1-2	P2-21	P2-24	Suzawa, T	PM1-10		
	PM2-13			Suzuki, A	P2-38		
Shikama, Y	MS2-2	PM1-19		Suzuki, K	○PM3-05		
Shiotsu, N	O2-05			Suzuki, N	PM2-29		
Shimada, J	P1-18			Suzuki, T	O3-04		
Shima, K	O4-07			Suzuki, W	PM1-11		
Shimakura, T	BS-2						
Shimatani, M	○PM2-31	PS-10		T			
Shimazaki, K	P2-22			Tachikawa, S	PM2-06		
Shimizu, M	US2-3			Tagaino, R	○O2-03		
Shimizu, Y	US1-1			Tajiri, Y	○PM1-21		
Shimomura-Kuroki, J	P2-30			Takada, A	PS-09		
Shimotakahara, R	○US3-2			Takagi, T	○PM1-01		
Shimoyama, Y	P3-43			Takahara, Y	○PM3-19		
Shin, M	○WS-3	O3-02		Takahashi, H	BS-2		
Shinoda, M	PM2-16			Takahashi, I	MS3-3	O3-02	P1-10
Shinozaki-Kuwahara, N	○P3-30	P3-32		Takahashi, K	US10-4		
Shintani, K	○P3-09	P3-10		Takahashi, K	○MS3-1		
Shirai, M	PM1-16			Takahashi, N	US1-4		
Shiraishi, Y	○O1-01			Takahashi, N	US7-2	US7-4	US7-5
Shirai, T	O2-02				O2-03	PS-07	
Shirakawa, T	PM2-08			Takahashi, SS	PM1-02	PM2-30	
Shirogane, Y	○O3-03			Takahashi, S	P2-29		
Shitara, A	US4-4	○O6-01	PM2-23	Takahashi, T	O4-02	P1-29	
Shoji, M	○O2-01			Takahashi, Y	○P3-42		
Sogawa, C	US5-5			Takahashi, Y	P3-34	P3-40	
Sogawa, N	PM2-05			Takahashi, Y	US7-1		
Somerman, MJ	○SL1			Takahata, M	US1-4		
Sone, E	US1-1			Takai, S	○MS1-2	MS3-3	P2-24
Sonoda, R	○P2-13				PM2-13		
Sonoda, S	○O5-04	○PM1-06		Takami, M	PM1-10	PM2-29	
Sonomura, T	○US3-4			Takayama, E	P1-37	P1-40	P1-41
Suda, N	PM2-21	PM2-22	PM3-06		P3-10	P3-16	
Suga, H	US1-1			Taka, Y	P1-34		
Sugamori, Y	BS-3	US1-1		Takebe, H	PM3-03		
Sugihara, N	O6-04			Takechi, M	US5-1		
Sugita, M	○P2-14			Takei, H	PM2-08		
Sugiura, T	○IRS-1			Takemoto, F	O2-05		
Suita, K	○US8-3	O1-09	O1-10	Takemoto, S	US10-4		
	O1-11	P3-01		Takeshita, T	○MS4-1	PM3-18	PM3-20
Sumi, Y	US3-1			Takeuchi, H	P2-18	P3-05	PM2-28
Sumitomo, T	○MS4-3	P3-37	PM3-19	Takeuchi, R	○P1-30		
Sun-Wada, GH	WS-4			Takezawa, K	○US3-3		
Suwa, F	US3-1			Takigawa, M	O4-06	O5-03	

Takimoto, R	○PM1-10				Toyoda, H	US8-1	○P2-15
Takizawa, H	PM2-29				Toyosawa, S	IRS-2	O3-03
Tamai, R	○O5-06	P3-41			Toyota, R	○O1-02	
Tamaki, K	O3-05				Tran, TM	MS5-2	
Tamaki, Y	P3-09				Tsogtsaikhan, K	○O3-04	
Tamamura, R	P1-16	P3-13			Tsuchiya, T	○PM2-21	PM2-22
Tamatsu, Y	US3-2				Tsuchiya, Y	US8-2	
Tamiya, Y	P3-26				Tsuda, E	○US1-4	
Tamura, H	PM3-12	○PM3-26			Tsujimura, M	P2-34	
Tamura, M	O5-07				Tsujimura, T	PM2-10	PM2-11
Tamura, M	PM3-15				Tsuji-Tamura, K	○O5-07	
Tamura, Y	BS-3	US1-1			Tsukinoki, K	P2-28	
Tanaka, H	P1-11	P1-26			Tsukuba, T	MS5-1	
Tanaka, J	P2-37	PM1-13			Tsunematsu, T	○AD-2	P1-20
Tanaka, K	○SL2				Tsunoda, M	O1-10	O1-11
Tanaka, M	PM1-10				Tsuruda, T	○US1-3	
Tanaka, S	○BS-6				Tsuruta, H	P3-09	
Tanaka, Y	O2-06	P1-19	P1-22		Tsutsumi, Y	O1-04	
	P3-38	PM3-17	PS-01				
	PS-08						
Tanimura, A	○US10-1	P2-27	P2-29		U		
	PM2-20	PM2-24	PM2-25		Uchibe, K	○P1-05	P2-19
PM2-26	PM2-27	PM2-31	PS-10		Uchida-Fukuhara, Y	○US5-6	O2-5
Tanuma, JI	PM1-20				Uchikoba, F	P2-01	
Tanzawa, S	○P3-26				Uchino, K	PM2-14	○PM3-09 PM3-22
Tasaki, S	O2-06	○P1-19	P1-22		Udagawa, N	US1-1	US1-3 US1-4
	P3-38	PM3-17				PM1-12	
Tashiro, Y	P3-34	○P3-40			Uehara, N	O5-04	P1-10 P1-12
Tatsumi, Y	P3-10					P1-14	PM1-06
Teramachi, J	○O4-05	P1-14			Uehara, S	PM1-12	
Terao, Y	P3-35	PM3-12	PM3-26		Uemura, M	○US3-1	O3-05 P3-25
Terasaka, N	US1-1				Ueno, K	P1-37	P1-40 P3-09
Terayama, R	P1-05	○P2-19				○P3-10	P3-16
Terumitsu, M	PM2-27				Uesaka, N	○CS-1	
Thongsiri, C	○P3-03				Umeki, D	US8-3	O1-09 P3-01
Toda, I	US3-1				Umemura, N	P1-37	P1-40 P1-41
Toda, M	○P1-16	P3-13				P3-10	○P3-16
Toida, Y	○PM2-18	PM2-19			Umemura, Y	US8-2	
Tomita, K	○P1-34				Urushibara, Y	US7-1	
Tomonari, H	O1-09	P3-22			Usami, Y	○IRS-2	US4-1 O3-03
To, M	P2-04	P2-28	P3-19		Ushio, R	○P1-18	
	○PM1-02				Utsunomiya, T	P2-03	
Torii, M	US7-1						
Torii, Y	O2-05						
Toyama, Y	O3-05						

W

Wada, S	P1-08	○P3-22	
Wada, Y	WS-4		
Wada-Takahashi, S	PM1-02	PM2-30	
Wakamori, M	○US10-4	WS-2	
Wakisaka, S	PS-04		
Wakui, A	○US7-2	PS-07	
Wang, X	PM3-07		
Washio, J	US7-2	US7-4	US7-5
	O2-03	PS-07	
Watanabe, A	P1-16	○P3-13	
Watanabe, J	P2-32	PM3-10	
Watanabe, M	PM1-18		
Watanabe, N	P3-21	○PM3-13	
Watanabe, S	P2-18		
Watanabe, Y	MS1-2	○PM2-13	
Wei, P	MS5-2		
Wicaksono, DP	○US7-5		
Widyagarini, A	○O2-09		
Wongtim, K	○O2-08		

Y

Yagisawa, Y	US8-3	O1-09	
Yagita, K	US8-2		
Yajima, T	P2-09	○P2-22	
Yamada, A	PM1-10	PM1-11	PM1-13
Yamada, M	○P1-43	P2-20	
Yamada, M	○PM2-12		
Yamada, R	P2-36		
Yamada, T	US4-5		
Yamada, Y	○US9-1		
Yamaguchi, A	○AD-4	○US9-3	
Yamaguchi, H	○P1-33		
Yamaguchi, M	○O2-05		
Yamaguchi, M	P3-37	PM3-19	
Yamaguchi, Y	MS5-1		
Yamaki, K	US7-2	PS-07	
Yamakoshi, Y	US6-2	P3-11	PM1-09
	PM1-14	PM1-16	PM1-17
Yamamori, T	P2-38		
Yamamoto, A	O4-04	PM3-08	
Yamamoto, H	○IRS-4		
Yamamoto, H	P3-17	P3-26	
Yamamoto, K	○US10-3	O1-08	

Yamamoto, K	P2-36		
Yamamoto, M	P2-05	P3-17	PM1-01
Yamamoto, R	US6-2	P3-11	PM1-14
	PM1-16	PM1-17	
Yamamoto, T	P1-02	○P1-13	
Yamamoto, T	US8-2		
Yamamoto, T	○BS-2		
Yamamoto, T	O4-03		
Yamamoto, Y	○P2-28		
Yamamura, K	O1-03		
Yamanaka, A	PM1-05		
Yamanaka, Y	P3-34	P3-40	
Yamasaki, R	PM1-08	PM3-24	
Yamashiro, T	O1-01		
Yamashita, T	P1-08	PM1-12	
Yamashita, Y	PM3-09		
Yamashita, Y	PM3-18	PM3-20	
Yamawaki, Y	○P2-26		
Yamazaki, H	O3-01		
Yamazaki, M	PM1-20		
Yamaza, T	O5-04	P1-10	P1-12
	P1-14	PM1-06	
Yang, Y	P1-15		
Yao, C	PM3-11		
Yasuda, M	○PM2-30		
Yasuhara, R	○P2-37		
Yasukochi, A	○P1-42		
Yasumatsu, K	○MS1-3		
Yasuo, T	P2-23	P2-25	○P3-04
Yasuura, N	○PM2-05		
Yawaka, Y	P1-02		
Yazaki, T	PM2-01	○PM2-07	
Yin, DX	US8-1		
Yoda, T	US1-1		
Yokoe, S	○P3-21	PM3-13	
Yokota, S	P1-27		
Yokoyama, M	PS-10		
Yokoyama, M	○US4-2	O6-02	
Yoshida, A	P3-39		
Yoshida, A	O1-04	P2-16	
Yoshida, K	○US5-4	O2-05	
Yoshida, K	O3-04		
Yoshida, K	P2-33	PS-10	
Yoshida, R	P2-12	P2-21	P2-24
Yoshida, T	US10-4		

Yoshida, Y	○PM1-11	阿部 真土	PS-04
Yoshihara, M	○PM2-10 PM2-11	阿部 未来	US6-4 ○O4-03
Yoshiko, Y	US5-2	網干 博文	PM1-15
Yoshimoto, G	○P3-25	天野 修	O5-01 O5-02 PM3-01
Yoshimoto, RU	○PM2-14 PM3-09 PM3-22	天野 カオリ	P2-07
Yoshimoto, S	○O6-05 PM1-22	天野 滋	P2-20
Yoshimura, H	PM3-11	網塚 憲生	US1-4 O4-03 P1-02
Yoshimura, K	JR-1 PM1-10		P1-13 PS-06
Yoshinari, N	P3-39	荒井 春乃	P3-15
Yoshino, H	US6-4	新井 嘉則	P1-03 P1-08
Yoshioka, N	PM3-07	荒川 俊哉	PS-09
Yoshioka, Y	PM1-08 PM3-24	有田(森岡) 健一	O2-06 P1-19 P1-22
Yoshizaki, K	WS-5 O3-02		P3-38 ○PM3-17 PS-08
Yoshizawa, M	PM1-12	有吉 涉	P3-03 PM1-08 PM3-24
Yotsuya, M	P2-05		PM3-25
Yugawa, M	PM2-21 ○PM2-22	Alharatani, R	US2-2

Z

Zhang, JQ	P1-10 ○P1-12 P1-14
Zhang, L	US7-4
Zhang, X	P1-12 P1-14
Zhao, S	US6-4

あ

合島 怜央奈	PM2-14
青木 和広	○BS-3 ○US1-1
青木 貴晃	○P1-27
青戸 一司	○O5-08
青山 絵理子	○O4-06
明石 良彦	P2-36
赤松 徹也	PM3-11
朝川 美加李	○PM3-18 PM3-20
朝田 芳信	P3-01
Addison, William	P1-32 P1-35
東 みゆき	O2-08 O2-09 P1-15
	PM3-23
東根 まりい	P3-20
畔津 佑季	PM2-29
安達 一典	PM2-21 PM2-22
Akter, Tahmina	○PM2-24
安彦 善裕	US7-2 US7-4
	○US11-2 P2-33 PS-10
阿部 佳子	PM1-14
阿部 伸一	P2-05 P3-17 PM1-01

安西 寛真 [Anzai, Hiromasa]
O6-05 ○PM1-22

安藤 瑛香 ○P2-18
安藤 恵子 US10-5
安藤 恵 P1-37 ○P1-40 P1-41

い

飯島 毅彦	PM1-11 PM1-13 PM2-06
飯島 洋介	P1-43 ○P2-20
飯村 忠浩	○MS5-3 PM2-18 PM2-19
井階 一樹	P3-08
五十嵐 健人	P1-34
五十嵐 由里子	○P2-01
池亀 美華	US5-6 O2-05
池崎 晶二郎	WS-4 P3-15 ○P3-20
池田 めぐみ	○PM2-29
池野 久美子	P1-40 P1-41 P3-09
池淵 祐樹	BS-3 US1-1
池本 梨央南	○PS-08
石井 久淑	P2-35 PM2-02 PM2-03
石川 邦夫	○DS-2
石河 太知	○P3-43
石川 昂	P3-17 P3-26
石川 美紗緒	O1-09 O1-10 O1-11
	P3-01
石川 結子	○P3-34 P3-40
石川 里奈	P2-35 ○PM2-02
石崎 明	P1-27
石崎 元樹	○PM2-01 PM2-07

石田 成美 ○PM2-26
 石束 叡 PM1-01
 石橋 拓馬 ○PS-03
 石原 和幸 O2-02
 石丸 直澄 AD-2 P1-20
 井関 祥子 ○US2-3
 磯野 加奈 ○O3-01
 依田 浩子 [Ida-Yonemochi, Hiroko]
 ○P3-14 PM3-05
 市川 博之 P2-09 P2-22
 一戸 達也 PM2-07
 出野 尚 ○P1-03 P1-08
 伊藤 愛子 US8-3 ○O1-09 O1-10
 O1-11 P3-01
 稲井 哲一朗 AD-1
 稲葉 陽 ○P3-15
 稲葉 啓太郎 P2-07
 乾 賢 PM2-05
 乾 千珠子 PS-04
 井上 茜 ○O3-02
 井上 貴一朗 ○P1-02
 井上 知 US5-3 ○P1-09
 井上 富雄 JR-2 PM2-04 PM2-06
 井上 博 ○P3-02
 井上 誠 PM2-10 PM2-11
 井上 真由子 P2-21
 Inoue, Momoko ○PM3-25
 井之川 仁 US8-2
 猪俣 恵 ○P1-17
 衣斐 美歩 P1-31
 今井 あかね ○P2-34 P3-27
 今井 健一 P1-44 P3-21 P3-42
 PM3-13 PM3-15
 入江 一元 PM3-03
 入江 太朗 P1-31
 岩井 治樹 PM1-05
 岩井 優 MS1-4
 岩瀬 晃康 US2-3
 岩田 幸一 PM2-16
 岩田 周介 ○P2-21
 岩田 哲成 US3-4
 尹 東旭 US8-1
 引頭 毅 P1-17 P1-21 P1-23
 P3-36

う

Widyagarini, Amrita ○O2-09
 Wicaksono, Dimas ○US7-5
 Wei, Penggong MS5-2
 上阪 直史 ○CS-1
 上野 恭平 P1-37 P1-40 P3-09
 ○P3-10 P3-16
 上原 俊介 PM1-12
 上原 範久 O5-04 P1-10 P1-12
 P1-14 PM1-06
 上村 守 ○US3-1 O3-05 P3-25
 宇佐美 悠 ○IRS-2 US4-1 O3-03
 牛尾 亮介 ○P1-18
 宇田川 信之 US1-1 US1-3 US1-4
 PM1-12
 内木場 文男 P2-01
 内野 加穂 PM2-14 ○PM3-09 PM3-22
 内部 健太 ○P1-05 P2-19
 宇都宮 忠彦 P2-03
 梅木 大輔 US8-3 O1-09 P3-01
 梅村 直己 P1-37 P1-40 P1-41
 P3-10 ○P3-16
 梅村 康浩 US8-2
 Urushibara, Y US7-1

え

江口 傑徳 ○US5-5
 江尻 貞一 ○BS-1
 江原 道子 P1-38

お

敖 翔 ○PM3-23
 大内 淑代 US4-1
 大内 基司 US4-3
 Ohkubo, C US7-1
 大熊 理紗子 ○PM1-09 PM1-14 PM1-16
 大倉 正道 US10-5
 大島 勇人 [Ohshima, Hayato]
 ○ES ○US6-1 O3-02
 P3-14 PM3-05
 Ohshima, T US7-1
 大谷 崇仁 ○AD-1 P3-05
 大津 圭史 ○WS-4 P3-15 P3-20

				か			
大西 智和	O4-07	P1-06	P1-07				
	PM1-07						
大貫 芳樹	US8-3	O1-09	O1-10	Khan, Masud	BS-3	US1-1	
	O1-11	P3-01		高 靖	O3-02		
大野 淳也	○P2-31			影山 幾男	US3-3		
大野 雄太	○US4-4	US4-5	O6-01	影山 伸哉 [Kageyama, Shinya]	○US7-3	PM3-18	PM3-20
	PM2-23						
大橋 晶子	O4-02	○P1-29		笠原 典夫	P3-17		
大原 直也	P1-28			梶浦 久仁洋	P3-16		
大森 喜弘	P1-18			柏俣 正典	US4-4	US4-5	O6-01
大山 定男	PM2-01	PM2-07			PM2-23		
岡 暁子	○WS-1			Kajiwara, Koichiro	○P1-25		
岡 俊一	P1-11			梶原 美絵	○O1-06		
岡 俊哉	P2-34			梶原 里紗	○PM2-06		
小笠原 正人	○P1-31	P3-43		鍛冶屋 浩	WS-3		
小笠原 悠大	○O5-01	O5-02	PM3-01	片岡 嗣雄	P1-21	○P3-36	
岡田 裕之	P1-16	P3-13		片桐 綾乃	US8-1	○O1-05	
岡田 康男	US7-2	P2-31		片桐 岳信	PM3-06		
岡田 悠之介	○PM2-03			片桐 浩樹	P3-29		
小方 彩乃	○PM1-15			片瀬 直樹	○P1-39		
緒方 佳代子	WS-1			勝又 明敏	US3-4		
岡部 幸司	WS-3	O3-02		葛城 啓彰	○P3-31		
岡村 和彦	O6-05			嘉手納 未季	PM3-21		
岡村 裕彦	US5-4	US5-6	O2-05	加藤 治	US4-2	O6-02	
岡本 邦彰	○MS5-2	US5-5		加藤 隆史	US8-1	O1-01	O1-02
岡本 圭一郎	O1-03				O1-05	P2-15	
岡本 富士雄	WS-3			加藤 大樹	O5-04	PM1-06	
小川 健二郎	○US4-5			加藤 靖正	P2-38		
小川 雄大	P3-17			門脇 知子	○MS5-1		
沖田 楓	○PM3-24			金久保 千晶	○PS-10		
奥舎 有加	MS5-2			金村 成智	US8-2		
奥原 滋	O2-08			金子 貴広	P1-43	P2-20	
奥村 敏	US8-3	O1-09	O1-10	金子 美泉	P2-01		
	O1-11	P3-01		金子 良平	P2-38		
奥村 将	O3-03			兼松 隆	P2-26		
落合 隆永	P1-38			加納 隆	US3-4		
落合 智子	P1-16	P1-24	P3-30	加納 史也	○O4-04	○PM3-08	
	P3-32	PM3-14		上岡 寛	O2-05		
小沼 一雄	US6-2			上條 竜太郎	JR-1	PM1-10	PM1-11
小野 堅太郎	P3-24	PM2-09	PM2-15		PM1-13		
小野 岳人	○CS-3			神谷 真子	○P1-37	P1-40	P1-41
小野 龍太郎	○US8-2				P3-09	P3-10	
小野澤 豪	O5-01	O5-02	PM3-01	加茂 政晴	P1-27		
於保 孝彦	O2-04			唐川 亜希子	PM2-29		
				唐木田 丈夫	○US6-2	PM1-09	PM1-14
					PM1-17		

Garidkhuu, Ariuntuul	O3-04			窪田 星子	○P3-37
Kawai, T	US7-1			熊上(坂野) 深香	P3-20
川木 晴美	P1-37	P1-40	P1-41	久山 佳代	P2-03
	P3-09	P3-10	P3-16	倉木 萌	○PS-04
Kawasaki, Shiori	○O1-07			倉重 圭史	PM2-25
川崎 博生	PS-09			倉本 恵梨子	P2-13 PM1-05
川島 渉	US3-1	P3-25		栗原 裕基	US2-3
河内 美帆	US7-2	○PS-07		黒石 加代子	P3-24
川戸 貴行	P1-11	P1-26		黒坂 寛	○US2-1
河野 哲	P3-16			黒澤 実愛	○PM1-19
川端 重忠	P3-37	PM3-19		黒嶋 伸一郎	MS2-2 ○BS-4
川端 由子	○P2-24			黒田 英孝	PM2-07 PM2-30
河原 博	O1-10	PM1-14		桑島 治博	P3-27 P3-29
川元 龍夫	P3-24	PM3-25		桑田 啓貴	PM3-21
菅崎 弘幸	P3-22			桑原 紀子	○P3-30 P3-32
				郡司掛 香織	P3-24

き

菊池 布恵	○P3-17		
菊池 真理子	○PM3-21		
岸本 沙樹	O1-05		
北河 憲雄	AD-1	○P2-08	
北沢 太郎	US2-3		
北村 和雄	US1-3		
北村 啓	P3-17	P3-26	PM1-01
城戸 寛史	O2-06		
城戸 瑞穂	PM2-14	PM3-09	PM3-22
木村 俊介	○US1-2		
木村 宗惟	P1-01	○PM1-23	
木村 麻記	PM2-01	PM2-07	
久本 由香里	O5-04	P1-10	P1-12
	P1-14	PM1-06	
清浦 有祐	O5-06	P3-41	
清島 保	IRS-3	PM1-21	PM2-14
	PS-03	PS-05	
清本 賢一	O1-10	O1-11	

<

久木田 明子	P1-10	P1-12	P1-14
久木田 敏夫	O5-04	P1-10	P1-12
	P1-14	PM1-06	
楠山 譲二	○O4-07		
工藤 保誠	AD-2		
國友 栄治	PM3-12		
久保田 聡	US5-6	O4-06	O5-03

こ

顧 炯炎	P1-10	P1-12	○P1-14
Khokha, M	US2-2		
小池 亮	○P1-44		
小池 宣也	US8-2		
小出 雅則	US1-3	PM1-12	
高 イキ	PM2-14	PM3-09	PM3-22
郷 賢治	○PM2-27		
合田 征司	P3-02		
河野 哲朗	P1-16	P3-13	
河野 由	○PM3-15		
古株 彰一郎	P1-32	P1-35	
國分 克寿	P2-36		
小坂 萌	O3-04		
越石 麟	○PS-06		
古西 清司	P3-40		
小島 剛志	○P2-38		
小島 寛	P1-19		
五條 菜央	○P3-08		
古玉 芳豊	P3-43		
後藤 晶乃	○P1-32	P1-35	
後藤 哲哉	○MS2-3	○US11-3	P2-13
	PM1-05		
後藤(松元) 奈緒美	WS-4		
小橋 基	○P2-12		
小林 正治	PM1-20		
小林 真之	○US10-3	O1-06	O1-07
	O1-08	PM2-08	

小林 泰浩	PM1-12			佐藤 淳	IRS-2		
小林 良喜	P1-16	○P1-24	P3-30	佐藤 慶太郎	US4-3	US4-4	US4-5
	PM3-14			佐藤 秀一	P3-21	PM2-16	PM3-13
小間 義朗	○P2-32	PM3-10		佐藤 大	US1-4		
小松 浩一郎	P1-03	○P1-08		佐藤 孝紀	PM2-18	○PM2-19	
五味 一博	O1-11	PM1-17		佐藤 拓一	US7-2	PS-07	
小守 壽文	O3-03			佐藤 匠	○PM3-11		
小柳 江梨子	MS1-1			佐藤 匡	○P2-09	P2-22	
Konstantino, M	US2-2			佐藤 寿哉	○P2-35	PM2-02	
近藤 邦生	MS1-4			佐藤 友昭	P1-34		
近藤 信太郎	P2-01			佐藤 元	○US8-1	P2-15	
近藤 信夫	P1-37	P1-40	P1-41	佐藤 文彦	○O1-04		
	P3-09	P3-10	P3-16	佐藤 正晃	US10-5		
近藤 真啓	PM1-15			佐藤 正樹	P2-05		
近藤 祐介	PM2-12			佐藤 真美	○P1-20		

さ

才木 桂太郎	P3-34	P3-40		佐藤 真理	O5-07		
齋藤 英一	P2-34			佐藤 祐太郎	○O2-02		
齊藤 魁星	PS-09			佐藤 義英	○P2-11		
齋藤 幹	WS-5			佐藤 律子	P2-27	○P2-30	
Saito, Kotaro	PM3-05			佐藤 涼一	○O6-04		
齊藤 悠	○PM1-16			里見 ひとみ	○P1-11		
齊藤 正人	PM2-03	PM2-25		實松 敬介	○US10-2	P2-24	
齋藤 真規	P3-30	○P3-32		佐野 拓人 [Sano, Hiroto]			
齊藤 まり	US6-2	○P3-11	PM1-14		○US7-2	P2-31	PS-07
佐伯 歩	○P1-23	P3-28		佐野 元彦	P1-43	P2-20	
酒井 陽	P2-32	PM3-10		猿田 樹理	P2-28		
阪井 丘芳	US4-1	P3-08		沢 禎彦	P1-25		
坂井 信裕	PM2-29			澤瀬 隆	BS-4		
酒井 学	US4-1	P3-08		澤田 孟志	PM2-14	PM3-09	PM3-22
寒河江 登志朗	P3-13						
坂上 宏	P1-43	P2-20					
坂口 和歌子	P2-28						
崎山 浩司	O5-01	○O5-02	PM3-01				
櫻井 菜緒美	○PS-09						
裕 哲崇	P2-23	P2-25	P3-04				
左合 - 伊藤 美紗	P3-24						
笹 清人	○JR-1	PM1-10	PM1-13				
佐々木 朗	O2-05						
佐々木 啓一	O2-03	O3-04					
佐々木 実	P3-43						
佐々木 宗輝	BS-4						
笹野 泰之	US11-1						
里 直行	○MS2-1						

し

Ji, W	US2-2		
Jiang, Peihua	MS1-2		
塩津 範子	O2-05		
四釜 洋介	MS2-2	PM1-19	
重村 憲徳	○MS3-3	○US10-2	MS1-2
	P2-21	P2-24	PM2-13
設楽 彰子	US4-4	○O6-01	PM2-23
篠田 雅路	PM2-16		
柴田 健一郎	P1-23	P3-28	
柴田 俊一	P1-04		
澁川 義幸	PM2-01	PM2-07	
渋谷 史織	PS-09		
嶋 香織	O4-07		
島倉 剛俊	BS-2		

島崎 健一郎	P2-22
嶋田 淳	P1-18
島谷 真梨	○PM2-31 PS-10
自見 英治郎	○DS-1 AD-1 O3-02 P1-01 P3-05 PM1-23
清水 美希	US2-3
清水 優里	US1-1
下高原 理恵	○US3-2
下村-黒木 淳子	P2-30
下山 佑	P3-43
Jahan, Azmeree	○PM2-20
Zhang, L	US7-4
庄子 幹郎	○O2-01
白井 尊久	O2-02
白井 麻衣	PM1-16
白石 優季	○O1-01
白川 哲夫	PM2-08
白銀 陽一郎	IRS-2 O3-03
進 正史	○WS-3 O3-02
新谷 耕平	○P3-09 P3-10

す

吹田 憲治	○US8-3 O1-09 O1-10 O1-11 P3-01
菅 裕明	US1-1
菅森 泰隆	BS-3 US1-1
杉浦 剛	○IRS-1
杉田 誠	○P2-14
杉原 直樹	O6-04
須澤 徹夫	PM1-10
鈴木 厚子	P2-38
Suzuki, Kiyoko	○PM3-05
鈴木 敏彦	O3-04
鈴木 規元	PM2-29
鈴木 航	PM1-11
須田 直人	PM2-21 PM2-22 PM3-06
角 陽一	US3-1
住友 倫子	○MS4-3 P3-37 PM3-19
諏訪 文彦	US3-1
諏訪部 武	P2-23 ○P2-25
孫-和田 戈虹	WS-4

せ

関 有里	○PM3-03
------	---------

瀬戸口 大介	○O2-04
仙波 伊知郎	O4-07

そ

曹 愛琳	PM2-14
十川 千春	US5-5
十川 紀夫	PM2-05
曾根 絵梨	US1-1
園田 聡一郎	○O5-04 ○PM1-06
園田 怜美	○P2-13
菌村 貴弘	○US3-4
Somerman, Martha J	○SL1
成 昌奂	O4-07 P1-06 P1-07 ○PM1-07

た

Dhar, Ashis	PM1-05
高井 信吾	○MS1-2 MS3-3 P2-24 PM2-13
互野 亮	○O2-03
高木 貴博	○PM1-01
高 裕子	P1-34
高田 鮎子	PS-09
高橋 一郎	MS3-3 O3-02 P1-10
高橋 かおり	US10-4
高橋 克	○MS3-1
高橋 聡子	PM1-02 PM2-30
高橋 茂	P2-29
高橋 俊介	PM1-02 PM2-30
高橋 富久	O4-02 P1-29
高橋 直之	US1-4
高橋 信博	US7-2 US7-4 US7-5 O2-03 PS-07
高橋 榮明	BS-2
Takahashi, Y	US7-1
高橋 佑和	○P3-42
高橋 幸裕	P3-34 P3-40
高畑 雅彦	US1-4
高原 悠樹	○PM3-19
高見 正道	PM1-10 PM2-29
高山 英次	P1-37 P1-40 P1-41 P3-10 P3-16
滝川 正春	O4-06 O5-03
瀧澤 智美	P1-24 P3-30 P3-32

瀧澤 秀臣	PM2-29	千葉 敏江	P3-18
瀧本 玲子	○PM1-10	千葉 紀香	○P1-06 P1-07 PM1-07
武井 浩樹	PM2-08	千葉 雄太	○WS-5 ○PM3-07
竹内 弘	P2-18 P3-05 PM2-28	千葉-大熊 理紗子	US6-2
竹内 麗理	○P1-30	智原 栄一	P1-37
竹澤 康二郎	○US3-3	茶谷 昌宏	PM2-29
竹下 徹	○MS4-1 PM3-18 PM3-20	中條 貴俊	○P2-36
武智 正樹	US2-3 ○US5-1	趙 申	US6-4
建部 廣明	PM3-03	Chang, Emily	○PM3-14
竹本 さやか	US10-4	張 曉旭	P1-12 P1-14
竹本 史子	O2-05	張 旌旗	P1-10 ○P1-12 P1-14
田崎 園子	O2-06 ○P1-19 P1-22	帖佐 直幸	P1-27
	P3-38 PM3-17		
田尻 祐大	○PM1-21	つ	
田代 有美子	P3-34 ○P3-40	Tsogtsaikhan, Khongorzul	○O3-04
立川 哲史	PM2-06	槻木 恵一	P2-28
巽 勇介	P3-10	辻村 恭憲	PM2-10 PM2-11
田中 啓治	○SL2	筑波 隆幸	MS5-1
田中 準一	P2-37 PM1-13	辻村 麻衣子	P2-34
田中 伸哉	○BS-6	津田 英資	○US1-4
田中 秀樹	P1-11 P1-26	土屋 隆子	○PM2-21 PM2-22
田中 元博	PM1-10	土谷 佳樹	US8-2
田中 芳彦	O2-06 P1-19 P1-22	堤 友美	O1-04
	P3-38 PM3-17 PS-01	常松 貴明	○AD-2 P1-20
	PS-08	角田 通則	O1-10 O1-11
谷村 明彦	○US10-1 P2-27 P2-29	鶴田 はねみ	P3-09
	PM2-20 PM2-24 PM2-25	鶴田 敏博	○US1-3
	PM2-26 PM2-27 PS-10		
田沼 順一	PM1-20	て	
玉井 利代子	○O5-06 P3-41	寺尾 豊	P3-35 PM3-12 PM3-26
玉置 孝蔵	O3-05	寺坂 尚紘	US1-1
玉置 幸道	P3-09	寺町 順平	○O4-05 P1-14
玉村 亮	P1-16 P3-13	寺山 隆司	P1-05 ○P2-19
田松 裕一	US3-2	照光 真	PM2-27
田宮 資己	P3-26		
田村 光	PM3-12 ○PM3-26	と	
田村 正人	O5-07	戸井田 侑	○PM2-18 PM2-19
田村 宗明	PM3-15	董 嬌	○PM3-10
田村-辻 潔美	○O5-07	東 雅啓	P2-04 P2-28 P3-19
田村 幸彦	BS-3 US1-1		○PM1-02
丹沢 聖子	○P3-26	堂前 英資	PS-02
壇辻 昌典	○JR-2 PM2-04 PM2-06	Thongsiri, Chuencheewit	○P3-03
		戸田 伊紀	US3-1
ち			
千喜良 緑	○O1-08		

戸田 みゆき	○P1-16	P3-13	中道 裕子	US1-3	PM1-12
富田 和男	○P1-34		仲村 健二郎	P3-27	P3-29
友成 博	O1-09	P3-22	中村 源次郎	P1-40	P1-41 P3-09
土門 久哲	○P3-35	PM3-12 PM3-26	中村 史朗	JR-2	○CS-2 PM2-04
豊山 洋輔	O3-05			PM2-06	
豊澤 悟	IRS-2	O3-03	中村 誠司	P1-01	P1-42 PM1-23
豊田 理紗	○O1-02		中村 卓史	US10-4	○WS-2
豊田 博紀	US8-1	○P2-15	中村 浩彰	O4-01	
Tran, Tien Manh	MS5-2		中村 文彦	○P2-23	
Torii, M	US7-1		中村 麻衣	○PS-01	PS-08
鳥井 康弘	O2-05		中村 雅典	US5-3	P1-09 P3-23
Dong, Jiao	P2-32		中村 美どり	US1-3	

な

内藤 哲	○P2-05	
内藤 真理子	O2-01	P1-28
中井 久美子	P1-11	○P1-26
中井 淳一	○US10-5	
永井 重徳	O2-08	O2-09 ○P1-15
	PM3-23	
中尾 寿奈	○P1-38	
中尾 龍馬	PM3-16	
永尾 潤一	O2-06	P1-19 ○P1-22
	P3-38	PM3-17 PS-01
	PS-08	
長坂 新	O5-01	O5-02
	○PM3-01	
中澤 太	P3-41	
中島 和久	P1-03	P1-08
中島 和慶	BS-4	
中島 京樹	○O3-05	
中島 啓	P2-36	
中島 健一朗	○MS1-4	
永島 利通	O4-02	
長瀬 春奈	O6-01	○PM2-23
中田 匡宣	P3-37	PM3-19
中富 千尋	O3-02	○PM2-09 PM2-15
中富 満城 [Nakatomi, Mitsushiro]	O3-02	PM3-05
中西(松井) 真弓	WS-4	
中野 貴由	○BS-5	
永野 恵司 [Nagano, Keiji]	○US7-6	P3-33
長野 孝俊	PM1-17	
中原 賢	P3-29	

中道 裕子	US1-3	PM1-12
仲村 健二郎	P3-27	P3-29
中村 源次郎	P1-40	P1-41 P3-09
中村 史朗	JR-2	○CS-2 PM2-04
	PM2-06	
中村 誠司	P1-01	P1-42 PM1-23
中村 卓史	US10-4	○WS-2
中村 浩彰	O4-01	
中村 文彦	○P2-23	
中村 麻衣	○PS-01	PS-08
中村 雅典	US5-3	P1-09 P3-23
中村 美どり	US1-3	
中村 恵	○US11-1	
中村 有孝	US1-2	
中村 純基	O4-02	
中谷 有香	O1-07	PM2-08
中山 希世美	JR-2	PM2-04 PM2-06
中山 浩次	O2-01	P1-28
仲山 奈見	P1-43	P2-20
中山 真彰	○P1-28	
中山 光子	○P2-03	
永山 元彦	P1-38	
那小屋 公太	PM2-10	○PM2-11
梨田 智子	P2-30	
浪花 耕平	○O3-03	
浪花 真子	P3-24	○PM2-15
成田 由香	O2-06	P1-19 P1-22
	○P3-38	PM3-17
成山 明具美	○P3-01	

に

新山 宗	P1-36	
二階堂 徹	P3-10	
西田 崇	○O5-03	
西田 梨恵	○PM1-13	
西谷 佳浩	P1-34	
西原 達次	P3-03	
二宮 一智	P3-27	○P3-29
二宮 禎	○O4-02	
二ノ宮 裕三	MS1-2	P2-21 P3-04
二藤 彰	P1-03	P1-08

ね

根来(安松) 香奈江	○O2-06	P1-19 P1-22
	P3-38	PM3-17

根津 顕弘 US10-1 P2-27 ○P2-29
PM2-20 PM2-24 PM2-25
PM2-27 PM2-31

の

野口 毅 ○PM2-04
野田 守 P1-27
野代 知孝 PM2-12
野々山 駿 ○PM1-17

は

Paudel, Durga ○P2-33
羽賀 健太 ○PM1-20
羽下-辻村 麻衣子 P3-29
橋本 修一 O6-05 PM1-22
長谷 耕二 US1-2
長谷川 敬展 PM3-11
長谷川 智香 ○JR-3 US1-4 ○US6-4
O4-03 P1-02 P1-13
PS-06
長谷川 真奈 ○O1-03
長谷部 晃 P1-23 ○P3-28
波田野 悠夏 O3-04
服部 高子 US5-6
花岡 麻里子 ○PS-02
馬場 昌範 ○PL
早川 佳男 US8-3 O1-09 ○O1-10
O1-11 P3-01
林 慶和 ○PM1-04
林田 尚斗 P3-34 P3-40
原 詩歌 ○PM1-08
原 基 P3-27 P3-29
原 弥勒力 O4-01
原田 秀逸 MS1-1
原田 英光 WS-1 WS-4 P3-15
P3-20
Pahlevi, Muhammad ○O2-07
Han, Sili ○US7-4
坂東 健二郎 P2-20
坂東 康彦 ○JR-4 O5-01 O5-02
PM3-01

ひ

日浦 秀暢 ○P1-10 P1-12 P1-14
東 泉 P2-18 PM2-28
東野 史裕 P1-36
東山 大毅 US2-3
引地 尚子 PM3-24
樋田 京子 P1-36
日高 恒輝 P2-07
日高 亨彦 US6-2 ○PM1-14
人見 涼露 P3-24 PM2-09 PM2-15
日野 峻輔 P1-43 P2-20
日比 英晴 P2-32 PM3-10
Bimedekhgui, Ganzorig O3-04
日吉 巧 ○PM3-12 PM3-26
平木 昭光 PM1-22
平田 雅人 ○US9-2 AD-1 P1-01
P2-18 P3-05
平塚 浩一 P1-30
平山 悟 ○PM3-16
廣井 美紀 P1-18
廣内 英智 P2-05
廣瀬 勝俊 IRS-2 O3-03
廣瀬 健佑 ○PM2-08
廣瀬 文恵 MS3-3
広瀬 雄二郎 P3-37
廣橋 優奈 US1-1

ふ

傅 欧 MS1-4
Fatma, Rashed US1-1
Feng, Yunxia MS5-2
福井 佳代子 ○P3-27 P3-29
福島 美和子 ○US5-3 P1-09 P3-23
福田 真嗣 ○MS4-2
福田 千恵 US1-4
福田 晃 ○PM2-28
福原 瑤子 ○US5-6 O2-05
福本 敏 WS-2 WS-5 PM3-07
藤井 慎介 ○IRS-3 PM1-21 PS-03
PS-05
藤井 規孝 O1-03
藤猪 英樹 O2-07
藤川 芳織 US5-3 P1-09 ○P3-23
藤田 修一 P1-39

藤田 隆寛	P1-25	牧野 優徳	PM3-09	○PM3-22
藤田 朋恵	US4-3	正木 千尋	PM2-12	
藤田 真理	○P3-33	眞島 いづみ	O5-06	○P3-41
藤本 龍史	○PS-05	栴田 菜々子	US7-2	PS-07
Fujimoto, Tetsuya	○P2-17	町谷 亜位子	○PM3-06	
藤原 恭子	O4-02	松尾 一朗	US8-3	O1-09 O1-10
船戸 紀子	○P1-04		○O1-11	P3-01
船橋 誠	PM2-05	松尾 雅斗	P2-04	○P2-07 P3-19
船山 昭典	PM1-20		PM1-02	
古川 匡恵	MS2-2 PM1-19	松尾 まりあ	○P3-19	
古澤 成博	P3-26	松岡 太相	P1-38	
古田 貴寛	O1-04 ○P2-16	松口 徹也	O4-07	P1-06 ○P1-07

へ

Beleza-Meireles, A US2-2

ほ

Hosey, MT	US2-2
Hoang, Tri Vu	US2-3
細川 隆司	PM2-12
細矢 明宏	PM3-03
堀田 正人	P3-09 P3-10
堀 裕亮	PM2-12
堀江 成和	PM2-09
堀江 憲夫	P1-43 P2-20
堀部 寛治	○O4-01 PM1-12
本郷 裕美	O4-03 P1-13 PS-06
本田 裕子	PM2-14 PM3-09 PM3-22
本間 雅	BS-3 US1-1

ま

馬 佳楽	○PM3-20
Margolskee, Robert	MS1-2
間石 奈湖	P1-36
前川 知樹	○AD-3 P3-35 PM3-12
	PM3-26
前島 健吾	O3-05
前田 咲	US4-5
前田 健康	PM3-26
前田 豊信	P2-38
Maeda, N	US7-1
毛 丹	P3-02
Makishi, Sanako	PM3-05

松坂 賢一	P2-36
松下 健二	○MS2-2 PM1-19
松下 雅衣	○PM1-12
松田 彩	○P1-36
松田 一成	PM2-15
松田 美穂	AD-1 P3-05
松永 智	P2-05
松永 真由美	PM2-01 PM2-07
松並 晃弘	P1-37 P1-40 ○P1-41
松野 昌展	P2-03
松原 琢磨	P1-32 P1-35
松本 尚馬	US3-1
松本 卓也	○DS-3
松本 裕子	P1-30
Mayanagi, G	US7-2
丸岡 春日	P1-02
丸山 智	PM1-20
丸山 伸吾	US7-2 PS-07
丸山 裕	P2-32

み

見明 康雄	P3-18
三浦 裕仁	○MS1-1
三坂 巧	MS1-4
美島 健二	○MS3-2 P2-37 PM1-13
三島 弘幸	○P3-18
水田 奏 [Mizuta, Kana]	P1-32 ○P1-35
水橋 史	P2-30
溝上 顕子	○JR-5 AD-1 P1-01
	P2-18 ○P3-05
溝口 利英	○US6-3 PM3-03
三戸 浩平	P2-35 PM2-02 PM2-03

美藤 純弘	P2-12	安田 美智子	○PM2-30
皆木 瞳	○US4-1 P3-08	安原 理佳	○P2-37
南崎 朋子	US5-2	安松 啓子	○MS1-3
峰 和治	US3-2	八巻 恵子	US7-2 PS-07
箕越 靖彦	MS1-4	山口 朗	○AD-4 ○US9-3
蓑輪 映里佳	○PM2-25	山口 晴香	○P1-33
宮川 博史	P3-33	山口 真輝	○O2-05
宮村 侑一	P3-24 PM2-09	山口 雅也	P3-37 PM3-19
宮本 洋一	JR-1 PM1-10	山口 優	MS5-1
三好 智博	○P3-39	山越 康雄	US6-2 P3-11 PM1-09
Minjuur, Tserenbat	O3-04		PM1-14 PM1-16 PM1-17

む

Mukai, Yoko	○US7-1	山座 孝義	O5-04 P1-10 P1-12
向坊 太郎	PM2-12		P1-14 PM1-06
宗政 翔	PM2-12	山崎 亮太	PM1-08 PM3-24
村上 圭史	O2-07	山崎 英俊	O3-01
村上 尚希	○PM2-16	山崎 学	PM1-20
村田 佳織	PM2-26	山下 照仁	P1-08 PM1-12
村田 早羅	O5-04 PM1-06	山下 佳雄	PM3-09
村松 泰徳	P1-37 P1-41	山下 喜久	PM3-18 PM3-20

も

望月 文子	JR-2 PM2-04 PM2-06	山城 隆	O1-01
森 大気	○P1-21 P3-36	山田 篤	PM1-10 PM1-11 PM1-13
森井 葵	○P3-24	山田 孝之	US4-5
森川 和政	P3-15	山田 美喜	○P1-43 P2-20
森川 哲郎	P2-33	山田 真紀雄	○PM2-12
森田 亜州華	○US4-3	山田 好秋	○US9-1
森田 貴雄	P1-33 ○P2-27 P2-29	山田 玲菜	P2-36
	P2-30	山中 淳之	PM1-05

や

姚 陳娟	PM3-11	山中 幸	P3-34 P3-40
八木澤 由佳	US8-3 O1-09	山村 健介	O1-03
八木田 和弘	US8-2	山本 朗仁	O4-04 PM3-08
矢崎 龍彦	PM2-01 ○PM2-07	山本 清文	○US10-3 O1-08
矢島 健大	P2-09 ○P2-22	山本 圭	P2-36
保浦 七愛	○PM2-05	山本 恒之	P1-02 ○P1-13
安尾 敏明	P2-23 P2-25 ○P3-04	山本 俊郎	US8-2
安河内 篤	○P1-42	山本 智章	○BS-2
安河内(川久保) 友世	○P1-01 P1-42 P3-05	山本 知真也	O4-03
	PM1-23	山元 英崇	○IRS-4

ヤン ユエ P1-15

ゆ

湯川 未郷 PM2-21 ○PM2-22

よ

横江 将 ○P3-21 PM3-13
 横田 聖司 P1-27
 横山 真子 PS-10
 横山 愛 ○US4-2 O6-02
 吉岡 直哉 PM3-07
 吉岡 香絵 PM1-08 PM3-24
 吉垣 純子 US4-2 ○O6-02
 吉子 裕二 US5-2
 吉崎 恵悟 WS-5 O3-02
 芳澤 享子 PM1-12
 吉田 明弘 P3-39
 吉田 篤 O1-04 P2-16
 吉田 賀弥 ○US5-4 O2-05
 吉田 貴恵 O3-04
 吉田 光希 P2-33 PS-10
 吉田 卓史 US10-4
 吉田 優子 ○PM1-11
 吉田 竜介 P2-12 P2-21 P2-24
 吉成 伸夫 P3-39
 吉野 弘菜 US6-4
 吉原 翠 ○PM2-10 PM2-11
 吉村 健太郎 JR-1 PM1-10
 吉村 弘 PM3-11
 芳本 岳 ○P3-25
 吉本 尚平 ○O6-05 PM1-22
 吉本 怜子 ○PM2-14 PM3-09 PM3-22
 依田 哲也 US1-1
 四ツ谷 護 P2-05

ら

Lakhani, SA US2-2
 ラマダニ ラトナ P2-35 PM2-02

り

Lu, Wei US1-1
 Liu, A US2-2
 劉 宇豪 ○P2-04 PM1-02

Liu, Karen ○US2-2
 Liu, Kehong P2-32
 劉 黎佩 ○PM1-18
 梁 尚陽 PS-01

る

Luo, Y US7-4

わ

若森 実 ○US10-4 WS-2
 脇坂 聡 PS-04
 涌井 杏奈 [Wakui, Anna] ○US7-2 PS-07
 鷺尾 純平 US7-2 US7-4 US7-5
 O2-03 PS-07
 和田 悟史 P1-08 ○P3-22
 和田 洋 WS-4
 渡辺 新 P1-16 ○P3-13
 渡邊 純奈 P2-32 PM3-10
 渡邊 誠之 P2-18
 渡辺 典久 P3-21 ○PM3-13
 渡邊 恵 PM1-18
 渡邊 雄 MS1-2 ○PM2-13
 王 欣 PM3-07
 Wongtim, Keeratika ○O2-08