

プログラム



JAOB JAPANESE ASSOCIATION FOR
ORAL BIOLOGY since 1958

ロッテ基金特別講演 (SL1, SL2)

ライオン学術賞受賞講演 (L1, L2)

歯科基礎医学会学会奨励賞受賞講演 (JR-1~JR-4)

教育講演 (ES)

メインシンポジウム (MS1-1~MS3-3)

日韓シンポジウム (JKS-1~JKS-4)

歯科基礎アカデミーシンポジウム (AS-1~AS-4)

先端歯学国際教育研究ネットワーク共催シンポジウム (AD-1~AD-4)

歯科基礎医学会・日本唾液腺学会共催シンポジウム (KDS-1~KDS-5)

日本歯科理工学会・歯科基礎医学会イノベーションロードマップの合同シンポジウム (IRS-1~IRS-4)

日本骨形態計測学会共催シンポジウム (BS-1~BS-6)

市民公開講座 (PL)

アップデートシンポジウム (US1-1~US6-5)

一般演題 (ポスター)

■ ロッテ基金特別講演 1

Special lecture accorded by the LOTTE Foundation 1

SL1 高井 研

(海洋研究開発機構 超先鋭研究開発部門)

「歯科基礎医学者の皆様に聞いて頂きたい極限環境生物や地球外生命の面白さ」

司会：高橋 俊介 (神歯大 院歯 循環制御・薬理)

日時：10月9日(土) 13:10~14:40

会場：A 会場

■ ロッテ基金特別講演 2

Special lecture accorded by the LOTTE Foundation 2

SL2 内藤 裕二

(京府医大 院医 生体免疫栄養)

「腸内微生物叢最前線—with/post コロナ時代の生命科学」

司会：浜田 信城 (神歯大 口腔細菌)

日時：10月10日(日) 13:10~14:40

会場：A 会場

■ ライオン学術賞受賞講演

Lecture by JAOB/Lion Dent Research Awards Winner

L1 篠田 雅路

(日大 歯 生理)

「口腔顔面痛の病態生理」

L2 依田 浩子

(新潟大 院医歯 硬組織形態)

「細胞内外環境による硬組織形成細胞の分化制御機構」

座長：井上 富雄 (昭大 歯 口腔生理)

日時：10月10日(日) 9:00~10:30

会場：A 会場

■ 歯科基礎医学会学会奨励賞受賞講演
JAOB/Rising Members Award Winner

JR-1 大野 雄太 (朝日大 歯 薬理)

座長：二藤 彰 (鶴大 歯 薬理)

「涙腺におけるアルギナーゼ 1 の発現低下が涙液分泌低下をもたらす」

JR-2 前川 知樹 (新潟大 院医歯 高口セ)

座長：宇田川信之 (松歯大 口腔生化)

「DEL-1 を介したエリスロマイシンの抗炎症メカニズム解明」

JR-3 佐藤 寿哉 (北医療大 歯 生理)

座長：岡部 幸司 (福歯大 細胞分子生物)

「糖尿病に合併する唾液分泌障害と唾液腺の副交感神経性血流増加反応との関連性」

JR-4 平山 悟^{1,2} (¹感染研 細菌第一, ²新潟大 院医歯 微生物)

座長：大原 直也 (岡大 学研院 口腔微生物)

「グリシンにより誘導された細菌メンブレンベシクルの性質とアジュバント活性の解析」

日時：10月10日(日) 14:50~16:20

会場：A 会場

■ 教育講演

Educational special lecture

ES 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)

「若手研究者のための英語による科学論文作成の
TIPS (後援: エルゼビア・ジャパン株式会社)」

日時: 10月9日(土) 14:50~16:20

会場: B会場

■ メインシンポジウム

Main symposium

メインシンポジウム1

「COVID-19におけるIgAの意義と新たな診断・予
防戦略」

オーガナイザー: 槻木 恵一 (神歯大 院歯 環境病理)

日時: 10月9日(土) 11:10~12:40

会場: A会場

MS1-1 「選択的IgA欠損症とCOVID-19罹患リスク」

山本 哲郎 (EPSホールディングス株式会社 創研セ)

MS1-2 「新型コロナウイルスに対する唾液IgA交叉抗体の存在とその意義」

槻木 恵一^{1,2,3} (¹神歯大 院歯 環境病理, ²神歯大 院附属唾液科学研,
³日本唾液ケア研究会)

MS1-3 「COVID-19ワクチンの開発」

長谷川秀樹 (感染研 インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究セ)

メインシンポジウム2

「ガイドドサージェリー時代の臨床解剖学」

オーガナイザー：阿部 伸一（東歯大 解剖）

松尾 雅斗（神歯大 口腔解剖）

日時：10月10日（日）10：40～12：10

会場：A会場

MS2-1 「臨床解剖に基づくインプラント治療の外科的リスクマネジメント」

関根 秀志（東歯大 クラウン補綴）

MS2-2 「下顎骨周囲における注意すべき血管走行のバリエーション」

阿部 伸一（東歯大 解剖）

MS2-3 「インプラント解剖学のオーラルバイオロジー」

松尾 雅斗（神歯大 口腔解剖）

MS2-4 「歯科インプラント治療におけるガイドドサージェリーの有用性」

木津 康博^{1,2,3}（¹木津歯科 オーラル&マキシロフェイシャルケアクリ
ニック横浜，²東歯大 口腔腫瘍外科，³東歯大 インプラント）

メインシンポジウム3

「歯槽骨再生における臨床応用の可能性を探る」

オーガナイザー：半田 慶介（神歯大 院歯 口腔生化）

日時：10月11日（月）10：40～12：10

会場：A会場

MS3-1 「ヒト多能性幹細胞由来軟骨内骨化組織の作製」

大庭 伸介（長大 生命医科 細胞生物）

MS3-2 「ヒト臍帯由来間葉系幹細胞を用いた顎裂再建の可能性」

須田 直人（明海大 歯 矯正）

MS3-3 「ヒト歯槽骨由来未分化骨芽細胞および3次元ポリ乳酸足場材を用いた新規骨再生医療技術の開発」

齋藤 正寛（東北大 院歯 保存）

■ 日韓シンポジウム JAOB-KAOS Symposium

「Peripheral and central pathways regulating energy homeostasis and obesity」

オーガナイザー：兼松 隆（九大 口腔機能分子）
照沼 美穂（新潟大 院医歯 口腔生化）

日時：10月10日（日）16：30～18：00

会場：A 会場

JKS-1 「Hypothalamic neuronal cilia regulate energy homeostasis」

Ki Woo Kim^{1,2} (¹Dept Oral Biol, Yonsei Univ Coll Dent, Seoul, Korea,
²Dept Appl Biological Sci, BK21 Plus, Yonsei Univ Coll Dent Seoul, Korea)

JKS-2 「光受容体 Opsin3 による褐色脂肪の光感受性」

佐藤 真理（北大 院歯 口腔分子生化）

JKS-3 「脂肪細胞表面受容体 GPRC6 による脂質代謝制御」

溝上 顕子（九大 院歯 OBT 研究セ）

JKS-4 「老化と加齢依存性疾患における脳グルコース代謝の役割」

安藤香奈絵^{1,2} (¹東京都立大 院理 生命科学, ²東京都立大 理 生命科学)

■ 歯科基礎アカデミーシンポジウム Academy Symposium of JAOB

「歯科医学の再生と進化を担う若手研究者による研究最前線」

オーガナイザー：前川 知樹（新潟大 院医歯 高度口腔機能教育研究セ）

溝上 顕子（九大 院歯 OBT 研究セ）

日時：10月9日（土）9：00～10：30

会場：A 会場

AS-1 「口腔内細菌叢破綻による糖・脂質代謝への影響」

片桐さやか（医科歯科大 院医歯 歯周病）

AS-2 「次世代への運動情報伝達器官としての胎盤機能の新定義」

楠山 譲二（東北大 学際科学フロンティア研）

AS-3 「シングルセル解析が解き明かす骨再生機構—Cellular Plasticity—」

松下 祐樹^{1,2}（¹ミシガン大 歯 小児矯正, ²長大 院医歯薬 口腔腫瘍治療）

AS-4 「上皮-間葉ネットワークにおける器官運命決定機構の解明」

吉崎 恵悟（九大 院歯 矯正）

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

「歯学研究の再生・進化とサイエンスへの貢献」

オーガナイザー：石丸 直澄（徳大 院医歯薬 口腔分子病態）
村上 伸也（阪大 院歯 口腔治療）

日時：10月9日（土）9：00～10：30

会場：B会場

AD-1 「歯科再生医学の展望と課題」

村上 伸也（阪大 院歯 口腔治療）

AD-2 「基礎歯学研究の進化と展望」

石丸 直澄（徳大 院医歯薬 口腔分子病態）

AD-3 「2型自然リンパ球による肺線維症発症メカニズム」

茂呂 和世^{1,2}（¹阪大 院医 生体防御, ²理化学研 生命医科学研究セ 自然免疫システム研究）

AD-4 「細胞は浸透圧という目に見えないフォースを内側から感じる」

一條 秀憲（東大 院薬 細胞情報）

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

「COVID-19 感染から考える唾液・唾液腺研究～感染
診断から感染制御に向けた展開～Saliva and sali-
vary glands research toward diagnosis and control
of Covid-19 infection」

オーガナイザー：阪井 丘芳（阪大 院歯 顎治）
谷村 明彦（北医療大 歯 薬理）

日時：10月9日（土）14：50～16：20

会場：A 会場

KDS-1 「イントロダクション：COVID-19 感染に対する唾液・唾液腺研究における
唾液腺学会と歯科基礎医学会の役割」

天野 修（明海大 歯 解剖）

KDS-2 「新型コロナ唾液検査法」

豊嶋 崇徳^{1,2}（¹北大 院医 血液内科, ²北大病院 検査・輸血）

KDS-3 「口腔・唾液中の SARS-CoV-2」

今井 健一（日大 歯 細菌/歯学総合研 生体防御）

KDS-4 「新規消毒薬を目指す MA-T の効果とそのメカニズム」

安達 宏昭（阪大 院薬 MA-T 酸化制御学共同研究）

KDS-5 「唾液腺における ACE2 の発現と MA-T を用いた口腔ケア用品の開発」

阪井 丘芳（阪大 院歯 顎治）

■ 日本歯科理工学会・歯科基礎医学会イノベーション ロードマップの合同シンポジウム Innovation Loadmap Symposium

「新たな再生医療・バイオマテリアルの開発」

オーガナイザー：宇田川信之（松歯大 口腔生化）
二瓶智太郎（神歯大 歯 臨床科学系歯科診療支援
クリニカル・バイオマテリアル）

日時：10月11日（月）13：10～14：40

会場：A 会場

IRS-1 「再生医療における金属材料の役割と課題」

埜 隆夫^{1,2}（¹医科歯科大 生材研, ²神戸大 未来医工）

IRS-2 「新しいバイオマテリアル：脱細胞化組織の可能性」

岸田 晶夫（医科歯科大 生材研 物質医工）

IRS-3 「次世代の再生補綴歯科治療に向けたイノベーションロードマップ」

江草 宏（東北大 院歯 分子・再生補綴）

IRS-4 「唾液腺3次元培養法の開発」

美島 健二（昭大 歯 口腔病理）

■ 日本骨形態計測学会共催シンポジウム Bone Morphometry Symposium

「顎骨再建の骨形態計測学的評価」

オーガナイザー：田中 伸哉（JCHO さいたま北部医療セ 整形外科）
青木 和広（医科歯科大 院医歯 口腔基礎工）

日時：10月11日（月）14：50～16：20

会場：A 会場

BS-1 「顎骨壊死の病態と評価」

北川 善政（北大 院歯 口腔診断内科）

BS-2 「顎骨再建に求められる生体材料の性質：機械的耐久性と骨誘導能」

埜 隆夫^{1,2}（¹医科歯科大 生材研, ²神戸大 未来医工）

BS-3 「3次元組織構築を基盤とした骨再生医療技術」

星 和人 (東大 院医 口腔顎顔面外科)

BS-4 「リン酸オクタカルシウム・コラーゲン複合体の組織学的評価と臨床応用」

高橋 哲 (東北大 院歯 顎顔面・口外)

BS-5 「RANKL 結合ペプチドを用いた顎骨造成」

青木 和広 (医科歯科大 院医歯 口腔基礎工)

BS-6 「材料の骨誘導能に関する骨形態計測学的評価」

田中 伸哉 (JCHO さいたま北部医療セ 整形外科)

■ 市民公開講座

Public Lecture

PL 花田 光司 (元 貴乃花親方)

「アスリートの歯科基礎医学」

司会：松尾 雅斗 (神歯大 口腔解剖)

日時：10月11日 (月) 9:00~10:30

会場：A 会場

■ アップデートシンポジウム Update symposia

アップデートシンポジウム 1

「A promotive liaison-meeting that may bridge knowledges between oral and medical sciences～
口腔疾患と全身疾患の新たな関係性を探す～」

オーガナイザー：津田 啓方（日大 歯 生化）

三上 剛和（新潟大 院医歯 顕微解剖）

日時：10月9日（土）16：30～18：00

会場：A 会場

US1-1 「Secretory leukocyte peptidase inhibitor (SLPI) による口腔上皮がん由来
Ca9-22 細胞の移動能・浸潤能亢進機構」

三上 剛和（新潟大 院医歯 顕微解剖）

US1-2 「アンモニアが脳に与える影響～フローラとの関連性～」

照沼 美穂（新潟大 院医歯 口腔生化）

US1-3 「代謝と口腔疾患」

岩田 淳一（テキサス大 歯 ヒューストン校）

US1-4 「自然免疫からみた IgG4 関連疾患の病態」

森山 雅文^{1,2}（¹九大 院歯 顎顔面腫瘍制御, ²九大 院歯 OBT 研究セ）

US1-5 「歯周組織で誘導される細胞死が歯周疾患および全身疾患に及ぼしうる影響」

津田 啓方（日大 歯 生化）

アップデートシンポジウム 2

「歯の鑑別の新展開」

オーガナイザー：近藤信太郎（日大松戸歯 解剖）
大島 勇人（新潟大 院医歯 硬組織形態）

日時：10月9日（土）16：30～18：00

会場：B会場

US2-1 「イントロダクション：歯の鑑別の新展開」

近藤信太郎（日大松戸歯 解剖）

US2-2 「形態地図法による大白歯の鑑別」

森田 航（科博 人類）

US2-3 「歯の鑑別について事象関連電位（ERP）を用いた認知心理学的解析」

青木伸一郎（日大松戸歯 口腔診断）

US2-4 「ディープラーニングを用いた歯の鑑別」

五十嵐由里子（日大松戸歯 解剖）

US2-5 「人工知能による歯科医療の未来」

常木 雅之^{1,2}（¹メドメイン株式会社，²新潟大 院医歯 硬組織形態）

アップデートシンポジウム 3

「骨再生におけるバイオマテリアル開発と骨質評価 アップデート」

オーガナイザー：長谷川智香（北大 院歯 硬組織発生）

鈴木 治（東北大 院歯 顎口腔機能創建）

日時：10月10日（日）14：50～16：20

会場：B会場

US3-1 「リン酸オクタカルシウムを用いた骨再生」

鈴木 治（東北大 院歯 顎口腔機能創建）

US3-2 「ヒト I 型コラーゲン様リコンビナントペプチドを用いた骨補填材の開発」

宮治 裕史（北大 院歯 歯周歯内）

US3-3 「新規リン酸化多糖体“リン酸化プルラン”を用いた骨再生」
長谷川智香（北大 院歯 硬組織発生）

US3-4 「コラーゲン／アパタイト配向性に基づく再生骨の骨質評価」
石本 卓也（阪大 院工 マテリアル生産科学）

アップデートシンポジウム 4

「がん研究の新たな潮流～歯学基礎研究からの発信～」

オーガナイザー：工藤 保誠（徳大 院医歯薬 口腔生命）

樋田 京子（北大 院歯 血管生物分子病理）

日時：10月10日（日）16：30～18：00

会場：B会場

US4-1 「口腔扁平上皮癌における「腫瘍実質-間質連関」による細胞増殖制御機構の
解明」

藤井 慎介（九大 院歯 口腔病理）

US4-2 「がん細胞の老化細胞様変化による新たな機能の獲得とその分子機構」

常松 貴明（徳大 院医歯薬 口腔分子病態）

US4-3 「がん微小環境ネットワークを制御するシグナルを標的とした治療法の開発」

渡部 徹郎（医科歯科大 院医歯 病態生化）

US4-4 「がんの悪性化における腫瘍血管の役割」

間石 奈湖（北大 院歯 血管生物分子病理）

US4-5 「癌促進性エクソソームとその機能抑制」

江口 傑徳（岡大 院医歯薬 歯科薬理）

アップデートシンポジウム5

「最新研究から考える口腔機能ダイバーシティ」

オーガナイザー：小野堅太郎（九歯大 歯 生理）

加藤 隆史（阪大 院歯 口腔生理）

日時：10月11日（月）13：10～14：40

会場：B会場

US5-1 「イントロダクション：最新研究から考える口腔機能ダイバーシティ」

小野堅太郎（九歯大 生理）

US5-2 「口腔機能研究—多様性の融合と昇華—」

井上 富雄（昭大 歯 口腔生理）

US5-3 「神経解剖学および電気生理学から明らかとなった咀嚼筋筋紡錘感覚の脳内経路とその機能」

吉田 篤（阪大 院歯 口腔解剖2）

US5-4 「歯科臨床からみた口腔生理学」

井上 誠（新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ）

US5-5 「味の記憶は脳にどのように貯蔵されるのか：味覚嫌悪学習の中樞神経機序の解明」

乾 賢（北大 院歯 口腔生理）

US5-6 「おいしさのダイバーシティ—ラットを用いた食感研究へのチャレンジ—」

中富 千尋（九歯大 生理）

アップデートシンポジウム 6

「The Challenge Reports on Oral Microbiota by Young Researchers」

オーガナイザー：鷺尾 純平（東北大 院歯 口腔生化）
大島 朋子（鶴大 歯 微生物）
佐藤 拓一（新潟大 院保 検査技術）
眞島いづみ（奥羽大 歯 口腔感染免疫）
永野 恵司（北医療大 歯 微生物）

日時：10月11日（月）14：50～16：20

会場：B会場

- US6-1 「The study on the production of acetaldehyde from ethanol by oral bacteria—Effects of oral environmental factors and ethanol concentration」
Ryo Tagaino^{1,2} (¹Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ²Div Adv Prosthet Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
- US6-2 「Profiling of microbiota in various remaining drinks of plastic bottle after drinking directly from plastic bottles」
Miho Kawachi (Div Clin Chem, Niigata Univ Grad Sch Health Sci)
- US6-3 「An *in vitro* senescence model of gingival epithelial cell induced by hydrogen peroxide treatment and reversal of senescence by fisetin」
Sarita Giri (Div Periodont Endodont, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
- US6-4 「Significance of oral microbiome study related to non communicable diseases in Indonesia」
Citra F. Theodora (Dept Oral Biol, Fac Dent, Univ Indonesia)
- US6-5 「Exploring the bacterial features of oral *Veillonella* by comparative pan-genome analysis」
Izumi Mashima (Div Oral Infect Immun, Ohu Univ Sch Dent)

■ 一般演題 (ポスター)

10月9日(土) 12:10~13:10 P1

解剖・組織 (モリタ賞応募)

1-P1-PM01	マウス舌下神経軸索の伸長誘導に関わる遺伝子群の網羅的解析 ○埴 太宥 ¹ , 田谷 雄二 ¹ , 堀江 哲郎 ² , 佐々木康成 ³ , 川本沙也華 ¹ , 工藤 朝雄 ¹ , 佐藤かおり ¹ , 添野 雄一 ¹ (日歯大 生命歯 病理, ² 日歯大 生命歯 衛生, ³ 神奈川こども医療セ 臨床研 歯科)
1-P1-PM02	口蓋創傷治癒過程における神経堤由来細胞の役割 ○瀧澤 秀臣 ^{1,2,3} , 唐川亜希子 ^{1,2} , 茶谷 昌宏 ^{1,2} , 須澤 徹夫 ⁴ , 坂井 信裕 ^{1,2} , 畔津 佑季 ^{1,2} , 浦野 絵里 ⁵ , 上條竜太郎 ⁴ , 榎 宏太郎 ³ , 高見 正道 ^{1,2} (昭大 歯 歯科薬理, ² 昭大 薬理科学研究セ, ³ 昭大 歯 矯正, ⁴ 昭大 歯 口腔生化学, ⁵ 昭大 歯 補綴)
1-P1-PM03	G タンパク質共役型受容体 Gpr111/Adgrf2 はエナメル質の石灰化を制御する ○千葉 雄太 ¹ , 吉崎 恵悟 ² , 田 甜 ² , 千葉 満生 ³ , 韓 旭 ¹ , 稲田 幸織 ¹ , 福本 敏 ^{1,3} (九大 院歯 小児口腔, ² 九大 院歯 矯正, ³ 東北大 院歯 小児歯)
1-P1-PM04	基底膜分子 Nephronectin は RGD 領域を介してエナメル芽細胞の分化制御に関与する ○水田 敢士 ¹ , 吉崎 恵悟 ¹ , 宮崎佳奈子 ¹ , 鮎田 啓太 ¹ , 湯田 智美 ¹ , 田 甜 ¹ , 傅 堯 ¹ , 川原 純平 ¹ , 福本 敏 ² , 高橋 一郎 ¹ (九大 院歯 矯正, ² 九大 院歯 小児口腔)
1-P1-PM05	Wnt シグナルが YAP を介して歯胚の形態形成を制御する分子基盤の解明 ○長野 良子, 清島 保, 藤井 慎介 (九大 院歯 口腔病理)
1-P1-PM06	GPI アンカー型タンパク質 Lypd1 は象牙芽細胞分化に重要な役割を果たす ○傅 堯 ¹ , 宮崎佳奈子 ¹ , 吉崎 恵悟 ¹ , 千葉 雄太 ² , 鮎田 啓太 ¹ , 田 甜 ¹ , 湯田 智美 ¹ , 水田 敢士 ¹ , 福本 敏 ² , 高橋 一郎 ¹ (九大 院歯 矯正, ² 九大 院歯 小児口腔)
1-P1-PM07	低温器官培養法を用いた抗癌剤シクロホスファミドによる歯胚形成阻害回避モデルの構築 ○田 甜 ¹ , 吉崎 恵悟 ¹ , 宮崎佳奈子 ¹ , 鮎田 啓太 ¹ , 湯田 智美 ¹ , 水田 敢士 ¹ , 傅 堯 ¹ , 川原 純平 ¹ , 福本 敏 ² , 高橋 一郎 ¹ (九大 院歯 矯正, ² 九大 院歯 小児口腔)
1-P1-PM08	胎生期マウス舌筋発生における筋芽細胞の分化制御 ○川本沙也華 ¹ , 田谷 雄二 ¹ , 佐々木康成 ² , 埴 太宥 ¹ , 工藤 朝雄 ¹ , 佐藤かおり ¹ , 添野 雄一 ¹ (日歯大 生命歯 病理, ² 神奈川こども医療セ 臨床研 歯科)
1-P1-PM09	ライブ観察法を用いた口蓋突起挙上時の組織変形の解析 ○長坂 新 ¹ , 崎山 浩司 ¹ , 板東 康彦 ¹ , 小野澤 豪 ^{1,2} , 天野 修 ¹ (明海大 歯 解剖, ² 明海大 歯 口腔顎顔面外科 1)
1-P1-PM10	Growth Differentiation Factor 5 (GDF5) による高密度培養の未分化間葉細胞遊走に与える BMP 受容体-Smads 経路の役割の検討 ○竹崎 公章 ¹ , 新留 裕子 ² , 林 慶和 ¹ , 畠山 純子 ³ , 米田 雅裕 ³ , 畠山 雄次 ¹ , 玉置 幸雄 ² (福歯大 機能構造, ² 福歯大 矯正, ³ 福歯大 総合歯)
1-P1-PM11	一軸性伸展刺激により <i>in vitro</i> で骨芽細胞分化を促進する条件の検討 ○竹本 史子 ^{1,2} , 福原 瑤子 ¹ , 池亀 美華 ¹ , 上岡 寛 ² , 岡村 裕彦 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔形態, ² 岡大 院医歯薬 矯正)
1-P1-PM12	骨形成における miR-125b の役割: miR-125b-2 ノックアウトマウスの解析 ○小笠原伯宏 ^{1,2} , 南崎 朋子 ¹ , 河野 尚平 ¹ , 星野 友則 ¹ , 吉子 裕二 ¹ (広大 院医 硬組織代謝生物, ² 広大 院医 矯正)
1-P1-PM13	副甲状腺ホルモン製剤投与による皮質骨多孔化の細胞学的メカニズムについて ○阿部 未来 ¹ , 山本知真也 ^{1,2} , 本郷 裕美 ¹ , Alireza Nasoori ¹ , 網塚 憲生 ¹ , 長谷川智香 ¹ (北大 院歯 硬組織発生, ² 陸自 真駒内)
1-P1-PM14	高齢マウスの顎関節における網羅的遺伝子解析 ○楊 牧葵, 中村 恵, 笹野 泰之 (東北大 院歯 顎口腔組織発生)
1-P1-PM15	抜歯窩治癒過程における Gli1 陽性歯根膜細胞の分化能 ○藤井 彩貴 ¹ , 建部 廣明 ² , 溝口 利英 ³ , 志茂 剛 ¹ , 細矢 明宏 ² (北医療大 歯 組織再建口外, ² 北医療大 歯 組織, ³ 東歯大 口腔科学研究セ)
1-P1-PM16	リン酸化多糖体/ β TCP 混合新規骨補填材によるインプラント周囲骨再生について ○久保田恵亮 ^{1,2} , 横山 敦郎 ¹ , 網塚 憲生 ² , 長谷川智香 ² (北大 院歯 口腔機能補綴, ² 北大 院歯 硬組織発生)
1-P1-PM17	味蕾オルガノイドにおける Mash1 発現細胞系譜の検索 ○松山 佳永, 片岡 真司, 豊野 孝, 瀬田 祐司 (九歯大 解剖)
1-P1-PM18	歯の欠損が口腔周囲軟組織に与える影響 ○高木 貴博, 山本 将仁, 渡辺 元次, 関谷 紗世, 山本悠太郎, 金平智恵美, 廣内 英智, 松永 智, 阿部 伸一 (東歯大 解剖)
1-P1-PM19	乳歯幹細胞の細胞外小胞を介した全身性エリテマトーデスの新規治療メカニズムの解明 ○園田聡一郎, 山座 孝義 (九大 院歯 分子口腔解剖)

1-P1-PM20	M細胞は眼周辺領域における免疫監視に寄与する ○大谷 祐貴, 木村 俊介, 長谷 耕二 (慶應大 薬 生化)
1-P1-PM21	ラット大唾液腺介在部における線維芽細胞と筋上皮細胞の関係 ○小野澤 豪 ^{1,2} , 長坂 新 ¹ , 坂東 康彦 ¹ , 崎山 浩司 ¹ , 天野 修 ¹ (明海大 院歯 解剖, ² 明海大 院歯 口腔外科)
1-P1-PM22	矯正の歯根吸収のリチウムによる抑制作用における硝子様変性と破歯細胞の関与 ○上田悠依華 ¹ , 森石 武史 ² , 佛坂 由可 ³ , 佛坂 齊社 ¹ (長大 院医歯薬 矯正, ² 長大 院医歯薬 細胞生物, ³ 長大 院医歯薬 口腔腫瘍治療)
1-P1-PM23	RANKL/OPG 比は損傷した歯髄における破歯細胞形成を調節する ○西田 大輔 ¹ , 荒井 敦 ² , 堀部 寛治 ¹ , 中道 裕子 ³ , 細矢 明宏 ⁴ , 中村 浩彰 ¹ , 小林 泰浩 ³ , 宇田川信之 ⁵ , 溝口 利英 ⁶ (松歯大 口腔解剖, ² 松歯大 矯正, ³ 松歯大 総歯医研, ⁴ 北医療大 歯 組織, ⁵ 松歯大 口腔生化, ⁶ 東歯大 口科研セ)
1-P1-PM24	細胞外マトリックスを用いた交互積層細胞コート法による三次元肺組織モデルの構築 ○赤松由佳子 ^{1,2} , 住友 倫子 ¹ , 川端 重忠 ¹ (阪大 院歯 口腔細菌, ² 阪大 院歯 障害歯)

生化学 (モリタ賞応募)

1-P1-PM25	ブラジル産プロポリスによる抗 CD3 刺激脾細胞の IL-2 産生促進作用の解析 ○鶴田はねみ ¹ , 神谷 真子 ² , 池野久美子 ³ , 上野 恭平 ⁴ , 梅村 直己 ⁴ , 高山 英次 ⁴ , 川木 晴美 ⁵ , 中村源次郎 ³ , 二階堂 徹 ¹ , 近藤 信夫 ⁴ (朝日大 歯 保存, ² 朝日大 経営 経営, ³ 株式会社 秋田屋本店 研究開発, ⁴ 朝日大 歯 口腔生化, ⁵ 朝日大 歯 化学)
1-P1-PM26	Artepillin C および PPAR- γ 阻害, GW9662 による抗 CD3 抗体刺激マウス脾臓細胞のサイトカイン産生の修復 ○高橋 萌 ¹ , Kamiya Masako ² , Kawaki Harumi ² , Ikeno Kumiko ⁴ , Takayama Eiji ² , Nakamura Genjiro ⁴ , Umemura Naoki ² , Ueno Kyohei ² , Muramatsu Yasunori ¹ , Kondoh Nobuo ² (朝日大 歯 口外, ² 朝日大 歯 口腔生化, ³ 朝日大 営 化学, ⁴ 株式会社 秋田屋本店 研究開発)
1-P1-PM27	HUCPVC の分化に及ぼす塩基性線維芽細胞増殖因子の影響 ○矢部 正浩 ¹ , 唐木田丈夫 ² , 山本 竜司 ² , 野々山 駿 ¹ , 山越 康雄 ² , 長野 孝俊 ¹ , 五味 一博 ¹ (鶴大 歯 歯周病, ² 鶴大 歯 生化)
1-P1-PM28	骨タンパク質に含まれる骨再生促進因子の同定と効果の検証 ○齋藤 悠 ^{1,2} , 山本 竜司 ² , 白井 麻衣 ¹ , 大熊理沙子 ² , 山越 康雄 ² (鶴大 歯 補綴 I, ² 鶴大 歯 生化)
1-P1-PM29	糖尿病原因遺伝子 GPRC5B はグルコース飢餓によって誘導される頭頸部扁平上皮癌細胞のアポトーシスを抑制する ○金森 慶亮, 小澤 重幸, 生駒 丈晴, 鈴木 健司, 田中 香衣, 沢井奈津子, 安部 貴大 (神歯大 院歯 顎顔面機能再建)
1-P1-PM30	陰イオン交換により作製した異なるホウ素濃度の S-PRG フィラー抽出液のヒト歯髄由来幹細胞への影響 ○巽 勇介 ¹ , 川木 晴美 ^{2,3} , 上野 恭平 ³ , 新谷 耕平 ⁴ , 梅村 直己 ³ , 神谷 真子 ^{3,5} , 高山 英次 ³ , 堀田 正人 ⁶ , 二階堂 徹 ¹ , 近藤 信夫 ³ (朝日大 歯 保存, ² 朝日大 歯 化学, ³ 朝日大 歯 口腔生化, ⁴ 朝日大 歯 理工, ⁵ 朝日大 営 化学, ⁶ 朝日大)
1-P1-PM31	閉経による血清 RANKL 濃度の上昇は NF- κ B の非古典的経路を活性化し肥満を引き起こす ○森 馨代 ¹ , 溝上 顕子 ² , 佐野 朋美 ³ , 兼松 隆 ³ , 自見英治郎 ^{1,2} (九大 院歯 口腔細胞工学, ² 九大 院歯 OBT 研究セ, ³ 九大 院歯 口腔機能分子)
1-P1-PM32	新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 感染関連因子 S タンパク-Ace2 結合に対する歯磨剤及び洗口剤成分の阻害作用 ○柚島 眞里 ¹ , 堤 康太 ¹ , 辻 一徳 ² , 栗田 啓 ¹ , 西永 英司 ¹ , 槻木 恵 ³ (ライオン オーラルケア研, ² 分子機能研究所, ³ 神歯大 院歯 口腔科学)
1-P1-PM33	新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 感染関連因子 TMPRSS2 活性に対する歯磨剤及び洗口剤成分の阻害作用 ○牧野 莉帆 ¹ , 岩本 拓 ¹ , 辻 一徳 ² , 森下 聡 ¹ , 山本 幸夫 ¹ , 槻木 恵 ³ (ライオン 口腔健康科学研, ² 分子機能研究所, ³ 神歯大 院歯 口腔科学)

病理学 (モリタ賞応募)

1-P1-PM34	エナメル上皮腫における RAF1-MAPK 依存性の低分子量 G タンパク質 ARL4C の高発現は腫瘍細胞増殖と破骨細胞形成を促進する ○小倉 萌 ¹ , 藤井 慎介 ¹ , 自見英治郎 ^{2,3} , 清島 保 ¹ (九大 院歯 口腔病理, ² 九大 院歯 OBT 研究セ, ³ 九大 院歯 口腔細胞工学)
1-P1-PM35	口腔扁平上皮癌における上皮-間葉転換制御と上皮内進展・間質浸潤 ○阿部 達也 ¹ , 山崎 学 ¹ , 丸山 智 ² , 田沼 順一 ¹ (新潟大 院医歯 口腔病理, ² 新潟大 院医歯 病理検査 (歯科))
1-P1-PM36	洗口液中殺菌成分セチルピリジニウム塩化物水和物の SARS-CoV-2 に対する効果 ○武田 遼 ^{1,2} , 間石 奈湖 ¹ , 樋田 京子 ¹ (北大 院歯 口腔病態, ² 北大 院歯 口腔診断内科)
1-P1-PM37	軸索誘導因子 Sema3A による唾液腺形態形成および腺様嚢胞癌の増殖制御メカニズムの解明 ○藤本 龍史 ¹ , 藤井 慎介 ² , 清島 保 ² (九大 病院 臨床教育研修セ, ² 九大 院歯 口腔病理)

1-P1-PM38

内分泌攪乱物質 AhR リガンドは Cyp1a1 シグナルを介して破骨細胞分化および骨代謝を制御する
○吉川 友理, 井澤 俊, 上岡 寛 (岡大 院医歯薬 矯正)

薬理学 (モリタ賞応募)

1-P1-PM39

フェニトインの細胞内 Ca²⁺排出抑制作用による作動性 Ca²⁺応答の増強
○蕨輪映里佳¹, 倉重 圭史¹, 根津 顕弘², 齊藤 正人¹, 谷村 明彦² (北医療大 歯 小児歯, ²北医療大 歯 薬理)

1-P1-PM40

グリア細胞のカルシウム応答機構とそれに対する神経栄養因子の作用
○郷 賢治¹, 根津 顕弘², 谷村 明彦² (北医療大 歯 麻酔, ²北医療大 歯 薬理)

1-P1-PM41

中脳水道周囲灰白質腹外側部に位置するコリン作動性ニューロンに対するムスカリン受容体活性化の影響
○川崎 詩織, 中谷 有香, 小林 真之 (日大 歯 薬理)

1-P1-PM42

ラット島皮質抑制性シナプス伝達におけるプリン受容体を介した増強作用
○小助川聖史¹, 山本 清文², 小林 真之² (日大 歯 矯正, ²日大 歯 薬理)

1-P1-PM43

AQP5 発現量の異なるラットにおいてアセチルコリンによる血流変化は唾液分泌に重要な役割を果たす
○Aker Tahmina, Nezu Akihiro, Tanimura Akihiko (北医療大 歯 薬理)

1-P1-PM44

遺伝子改変マウスを用いた唾液腺・涙腺・膵臓における Cdc42 の機能解析
○長瀬 春奈, 設楽 彰子, 大野 雄太, 柏俣 正典 (朝日大 歯 薬理)

1-P1-PM45

歯原性上皮細胞株と歯髄幹細胞の自発的 Ca²⁺応答の発生機構と遺伝子発現変化の解析
○石田 成美, 仙葉 慎吾, 谷村 明彦 (北医療大 歯 薬理)

1-P1-PM46

透明化技術を用いた扁平上皮癌細胞による骨破壊と骨形成抑制のイメージング解析
○島谷 真梨¹, 谷村 明彦², 根津 顕弘² (北医療大 歯 組織再建口外, ²北医療大 歯 薬理)

1-P1-PM47

骨粗鬆症治療薬 PTH 製剤による骨微細構造および骨コラーゲンの整調効果の解明—新規蛍光イメージング解析による定量的トポロジー解析による骨質評価法の確立—
○佐藤 孝紀, 李 智媛, 飯村 忠浩 (北大 院歯 薬理)

1-P1-PM48

脂質およびコレステロール摂取量がマウスの歯と骨の恒常性に及ぼす影響
○佐藤ゆり絵^{1,2,3}, 坂井 信裕^{2,3}, 唐川亜希子^{2,3}, 畔津 佑季^{2,3}, 茶谷 昌宏^{2,3}, 高見 正道^{2,3} (昭大 歯 障害者, ²昭大 歯 歯科薬理, ³昭大 歯 薬理科学研究セ)

10月9日 (土) 12:10~13:10 P2

生理学 (モリタ賞応募)

1-P2-PM01

オプトジェネティクス法による抑制性シナプス長期増強の手法の開発
○小林 理美^{1,2}, 山本 清文¹, 藤田 智史², 小林 真之¹ (日大 歯 薬理, ²日大 歯 生物)

1-P2-PM02

急性持続性疼痛の動物モデルを用いた, 三叉神経支配領域における痛みの日内変動の解析
○新納 彩子¹, 大野 幸¹, 富田 和男², 倉本恵梨子³, 中村 渉⁴, 杉村 光隆¹ (鹿大 院医歯 歯科麻酔全身管理, ²鹿大 院医歯 応用薬理, ³鹿大 院医歯 機能形態, ⁴長大 院医歯薬 加齢口腔生理)

1-P2-PM03

オリゴデンドロサイトの産生する IL-33 は Fyn 依存的な GluN2B のリン酸化を介して口腔顔面領域神経障害性疼痛を促進する
○木村 有貴^{1,2}, 林 良憲¹, 篠田 雅路¹ (日大 歯 生理, ²日大 歯 口外 I)

1-P2-PM04

雄性マウス分界条床核ニューロン活動の抑制が味覚嫌悪学習の想起に及ぼす影響
○菊池 媛美^{1,2}, 乾 賢¹, 蘇 韶誌¹, 船橋 誠¹ (北大 院歯 口腔生理, ²北大 院歯 矯正)

1-P2-PM05

離乳後のラット咀嚼筋活動の長期的変化
○山田 雅治¹, 片桐 綾乃¹, 増田 裕次³, 佐藤 元⁴, 豊田 博紀¹, 丹羽 均², 加藤 隆史¹ (阪大 院歯 口腔生理, ²阪大 院歯 麻酔, ³松歯大 院歯 顎口腔機能, ⁴明海大 歯 薬理)

1-P2-PM06

エメチンおよびシスプラチンによる条件付け味覚忌避における最後野の役割
○蘇 韶誌, 保浦 七愛, 吉澤 知彦, 乾 賢, 船橋 誠 (北大 院歯 口腔生理)

1-P2-PM07

麻酔ラットへのアトロピン投与がもたらす蒸留水誘発嚥下の変調効果
○中嶋 優太, 辻村 恭憲, 那小屋公太, 吉原 翠, 川田 里美, 筒井 雄平, 井上 誠 (新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ)

1-P2-PM08

外側網様核刺激による嚥下反射の減弱
○坂詰 智仁¹, 佐藤 義英², 村川亞里紗², 大越 章吾¹ (日歯大新潟 内科, ²日歯大新潟 生理)

1-P2-PM09

歯肉の自律神経性血管反応における部位特異性とそれらの相互作用の解明
○岡田悠之介¹, 齊藤 正人¹, 石井 久淑¹ (北医療大 歯 小児歯, ²北医療大 歯 生理)

1-P2-PM10	ステロイド軟膏による口内炎症痛抑制機序の解明 ○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 (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式会社)
1-P2-PM11	象牙芽細胞におけるGs タンパク質共役型受容体の発現と三叉神経節細胞-象牙芽細胞間の細胞間連絡 ○齋藤 菜月 ¹ , 木村 麻記 ² , 黄地 健仁 ² , 澁川 義幸 ² , 一戸 達也 ¹ (東歯大 麻酔, ² 東歯大 生理)
1-P2-PM12	冬眠期の血清による末梢血単核球と脂肪由来幹細胞の骨芽細胞・骨細胞への分化について ○Nasoori Alireza ^{1,2} (北大 院獣医, ² 北大 院歯)
1-P2-PM13	<i>Porphyromonas gingivalis</i> 由来 LPS の慢性投与下における心疾患発症メカニズムの解明 ○松尾 一朗 ¹ , 吹田 憲治 ² , 早川 佳男 ³ , 伊藤 愛子 ⁴ , 石川美沙緒 ⁵ , 清本 賢一 ¹ , 角田 通則 ¹ , 大貫 芳樹 ² , 五味 一博 ¹ , 奥村 敏 ² (鶴大 歯 歯周, 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)
1-P2-PM14	咬合異常により惹起された慢性交感神経刺激状態による心機能障害に対する抗ヘルペス薬 (ビダラビン) の予防効果 ○早川 佳男 ¹ , 大貫 芳樹 ² , 吹田 憲治 ² , 石川美沙緒 ³ , 伊藤 愛子 ⁴ , 松尾 一朗 ⁵ , 清本 賢一 ⁵ , 角田 通則 ⁵ , 河原 博 ¹ , 奥村 敏 ² (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)
1-P2-PM15	マウス唾液腺 AQP5 発現に及ぼす高脂肪食および低タンパク質食摂取の影響 ○平田 愛佳 ^{1,2} , 姚 陳娟 ³ , 向井 理恵 ⁴ , 長谷川敬展 ³ , 吉村 弘 ³ , 赤松 徹也 ² (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 院歯歯薬 口腔分子生理, ⁴ 徳大 院社会産業理工 食料科学)
1-P2-PM16	非ステロイド性抗炎症薬長期投与によるマウス甘味・うま味感受性の抑制 ○平山 彩夏 ^{1,2} , 岩田 周介 ¹ , 尾池 麻未 ¹ , 渡邊 雄 ¹ , 川端 由子 ¹ , 實松 敬介 ¹ , 高井 信吾 ¹ , 高橋 一郎 ² , 重村 憲徳 ¹ (九大 院歯 口腔機能解析, ² 九大 院歯 矯正, ³ 九大 院歯 矯正, ⁴ 九大 院歯 OBT セ, ⁵ 九大 院歯 五感デバイス)
1-P2-PM17	気管平滑筋におけるメラトニン受容体 MT ₂ の発現と細胞内シグナリング機構 ○佐々木晴香, 水田健太郎 (東北大 院歯 歯科口腔麻酔)
1-P2-PM18	ラット三叉神経節細胞のGs タンパク質共役型受容体活性化による細胞内cAMP レベルの動態解析 ○國奥 有希 ¹ , 木村 麻記 ² , 黄地 健仁 ² , 澁川 義幸 ² , 福田 謙一 ¹ (東歯大 口腔健康科学, ² 東歯大 生理)

微生物 (モリタ賞応募)

1-P2-PM19	COVID-19 と口腔との関連 一歯周病原菌による ACE2 と炎症性サイトカインの発現誘導 ○高橋 佑和 ^{1,2} , 横江 将 ^{2,3} , 渡邊 典久 ^{2,3} , 神尾 宜昌 ² , 今井 健一 ² (日大 歯 補綴I, ² 日大 歯 細菌, ³ 日大 歯 保存Ⅲ)
1-P2-PM20	歯周病原細菌感染によるマウスの行動変化の免疫学的解明 ○岸川 咲矢 ¹ , 永尾 潤一 ^{1,2} , 豊永 憲司 ¹ , 根来-安松香奈江 ¹ , 田中 芳彦 ^{1,2} (福歯大 感染生物, ² 福歯大 口腔医学セ)
1-P2-PM21	<i>Porphyromonas gingivalis</i> の線毛成分をコードする遺伝子の多様性分析 ○榮 宏太郎 ^{1,2} , 永野 恵司 ³ , 古橋実結菜 ⁴ , 長谷川義明 ¹ (愛院大 歯 微生物, ² 愛院大 歯 歯内治療, ³ 北医療大 歯 微生物, ⁴ 愛院大 歯 小児歯)
1-P2-PM22	肺炎球菌のニューモライシン依存的な鼻粘膜バリア傷害と脳への伝播機構の関連 ○高原 悠樹 ^{1,2} , 住友 倫子 ¹ , 山口 雅也 ¹ , 中田 匡宣 ³ , 川端 重忠 ¹ (阪大 院歯 口腔細菌, ² 阪大 院歯 クラウンブリッジ, ³ 鹿大 院歯 口腔微生物)
1-P2-PM23	プロタミンおよび 3-methyl-4-isopropylphenol 共処理による <i>Enterococcus faecalis</i> に対する抗菌性 ○阿部 優 (明大 院理 応用化学 生物化学)
1-P2-PM24	Lactococcus lactis が産生する Nisin A の Clostridioides difficile への効果について ○井手 規暁 ^{1,3} , 松尾 美樹 ² , Le Mi Nguyen Tra ² , 西 裕美 ³ , 小松澤 均 ² (広大 院歯 歯科医学教育, ² 広大 院歯 細菌, ³ 広大 病院 口総診)
1-P2-PM25	過酸化水素処理によって生じる Aggregatibacter actinomycetemcomitans persiter の形成メカニズムとその排除 ○中村 鷹平 ^{1,2} , 山崎 亮太 ¹ , 有吉 渉 ¹ , 吉岡 香絵 ¹ (九歯大 感染分子生物, ² 九歯大 口腔機能発達)
1-P2-PM26	化膿レンサ球菌の不活性型ヒアルロン酸分解酵素の結晶構造解析と活性型変異体の構造予測 ○東 孝太郎 ^{1,2} , 山口 雅也 ¹ , 中田 匡宣 ³ , 武部 克希 ⁴ , 住友 倫子 ¹ , 鈴木 守 ⁵ , 川端 重忠 ¹ (阪大 院歯 口腔細菌, ² 阪大 院歯 義歯・高齢, ³ 鹿大 院歯 口腔微生物, ⁴ 阪大 院歯 口外2, ⁵ 阪大 蛋白質研)
1-P2-PM27	Streptococcus mutans におけるバクテリオシン産生遺伝子群の挿入に伴うバクテリオシン耐性因子の遺伝子再構成について ○Le Nguyen Tra Mi, 松尾 美樹, 小松澤 均 (広大 院歯 細菌)
1-P2-PM28	Streptococcus mutans が産生するバクテリオシンの包括的解析 ○渡邊 温子 ¹ , 松尾 美樹 ² , Le Nguyen Tra Mi ² , 小松澤 均 ² (鹿大 院歯 矯正, ² 広大 院歯 細菌)
1-P2-PM29	歯周基本治療が歯周炎局所マイクロバイオームに与える影響 ○高倉枝里子 ¹ , 石原 和幸 ² (東歯大短大 歯科衛生, ² 東歯大 微生物)
1-P2-PM30	口腔カンジダ症患者と非口腔カンジダ症患者由来の Candida albicans の性状の比較 ○大内 千里 ^{1,2} , 長谷部 晃 ¹ (北大 院歯 口腔分子微生物, ² 北大 院歯 口腔診断内科)

1-P2-PM31	口腔扁平上皮癌患者が保有する特徴的な歯周病原菌の同定 ○中島慎太郎 ^{1,2,3} , 來生 知 ³ (日歯大 生命歯, ² 日歯大 生命歯 発生・再生, ³ 横浜市大 医学 顎顔面口腔機能)
1-P2-PM32	<i>Porphyromonas gulae</i> 線毛遺伝子多型のバイオフィーム形成能への影響 ○吉田 翔, 稲葉 裕明, 仲野 道代 (岡大 院医歯薬 小児歯)
1-P2-PM33	<i>Streptococcus mutans</i> 由来メンブレンベシクルによる <i>Actinomyces</i> のバイオフィーム形成に対する細胞外 DNA の影響 ○鈴木 到 ¹ , 岩淵 祐介 ² , 泉福 英信 ³ (日大松戸歯 小児歯, ² 医科歯科大 院医歯 小児・障害者, ³ 日大松戸歯 感染免疫)
1-P2-PM34	S-PRG フィラーが口腔細菌に及ぼす抗菌効果と抗菌機序 ○河野 由 ^{1,2} , 田村 宗明 ^{3,4} , 今井 健一 ^{3,4} (日大 院歯 口腔構造機能, ² 日大 歯 口外 I, ³ 日大 歯 細菌, ⁴ 日大 総歯研 生体防御)
1-P2-PM35	次世代シーケンサーを用いた出生から生後 36 か月までの主要な口腔細菌推移の解析 ○山 和馬 ¹ , 齋田 悠人 ¹ , 井口 拓弥 ¹ , 市場 有子 ¹ , 城 隆太郎 ² , 奥田 卓馬 ² , 堤 康太 ² , 森嶋 清二 ³ , 柿澤 恭史 ¹ (ライオン(株) 先進解析科学研, ² ライオン(株) オールケア研, ³ (公財)ライオン歯科衛生研)
1-P2-PM36	肺炎球菌に対する抹茶成分の作用解析 ○笹川 花梨 ^{1,2} , 土門 久哲 ^{1,3} , 平山 悟 ¹ , 前川 知樹 ^{1,2,3} , 磯野 俊仁 ¹ , 日吉 巧 ^{1,2,3} , 田村 光 ^{1,2} , 寺尾 豊 ^{1,3} (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 高口セ)
1-P2-PM37	緑膿菌の抗菌薬耐性を調節する遺伝子の検索 ○パレヴィ ムハンマドレザ ¹ , 村上 圭史 ² , 藤蔭 英樹 ¹ (徳大 院医歯薬 口腔微生物, ² 川崎医療福祉大)
1-P2-PM38	<i>Porphyromonas gingivalis</i> が産生するポリアミンのヒト歯肉上皮細胞のメタボロームと増殖への影響 ○飯島 由羅, 久保庭雅恵, 坂中 哲人, 竹内 洋輝, 眞弓 昌大, 天野 敦雄 (阪大 院歯 予防歯)
1-P2-PM39	唾液を検体とした口腔健康状態評価法の開発 ○滝口涼美麗 ^{1,2} , 桑田 啓貴 ² , 森崎 弘史 ² , 鈴木 規元 ¹ , 逸見 百江 ² (昭大 歯 歯科保存 歯内治療, ² 昭大 歯 口腔微生物)
1-P2-PM40	インターフェロン誘導性ケモカイン CXCL9, CXCL10, CXCL11 のマウス扁平上皮癌細胞に対する抗腫瘍作用の違い ○松本 安史 ^{1,2} , 森 一将 ¹ , 廣井 美紀 ² , 大森 喜弘 ² (明海大 歯 口腔顎顔面外科, ² 明海大 歯 微生物)
1-P2-PM41	歯周病の発症における EBV 関与の可能性—慢性歯周病患者唾液中の酪酸は EBV の再活性化を誘導する— ○渡辺 典久 ^{1,2} , 横江 将 ^{1,2} , 佐藤 秀一 ¹ , 今井 健一 ² (日大 歯 保存 III, ² 日大 歯 細菌)
1-P2-PM42	血清飢餓状態が頭頸部癌細胞株に及ぼす影響と飢餓誘導遺伝子の予後との関連性 ○西山今日子 ¹ , 稲葉 裕明 ² , 濱田 正和 ¹ , 吉田 翔, 仲野 道代 ² (阪大 院歯 口外 2, ² 岡大 院医歯薬 小児歯)
1-P2-PM43	β -glucan による破骨細胞における NFATc1 の発現抑制の分子メカニズムの解明 ○古賀 雅輝 ^{1,2} , 吉岡 香絵 ² , 山崎 亮太 ² , 藤井 航 ¹ , 有吉 渉 ² (九歯大 口腔保健, ² 九歯大 感染分子生物)
1-P2-PM44	なぜ口腔細菌の誤嚥で肺炎が悪化するのか?—歯周病原菌による MUC5AC 発現とムチン産生の誘導— ○横江 将 ¹ , 渡辺 典久 ^{1,2} , 佐藤 秀一 ¹ , 今井 健一 ² (日大 歯, ² 日大 歯 細菌)

学部学生ポスター・・

1-P2-PS01	3次元培養システムを用いた口腔癌の薬剤応答性に対する新規 <i>in vitro</i> モデルの検証 ○佐藤 晃平 ¹ , 小野 喜章 ² , 河合 穂高 ³ , 中野 敬介 ³ , 長塚 仁 ³ , 佐々木 朗 ² (岡大 歯, ² 岡大 院医歯薬 口腔顎顔面外科, ³ 岡大 院医歯薬 口腔病理)
1-P2-PS02	口腔扁平上皮癌における CKAP4 発現および機能解析 ○工藤 広大 ^{1,2} , 片瀬 直樹 ² , 藤田 修一 ² (長大 歯, ² 長大 院医歯薬 口腔病理)
1-P2-PS03	アルツハイマー病モデルマウスの中脳路核でみられたアミロイド β とリン酸化タウの沈着と、その咀嚼機能への影響 ○北脇 綾乃 ¹ , 倉本恵梨子 ¹ , 齋藤 充 ² , 山中 淳之 ¹ , 岩井 治樹 ¹ , 後藤 哲哉 ¹ (鹿大 院医歯 機能形態, ² 鹿大 院医歯 口腔生理)
1-P2-PS04	(取り下げ)
1-P2-PS05	高骨代謝回転状態による podoplanin/PHOSPHO1 陽性骨芽細胞の局在変化 ○中嶋 悠斐 ^{1,2} , 山本知真也 ^{2,3} , 本郷 裕美 ² , Nasoori Alireza ² , 網塚 憲生 ² , 長谷川智香 ² (北大 歯 5年, ² 北大 院歯 硬組織発生, ³ 陸自 真駒内)
1-P2-PS06	<i>Porphyromonas gingivalis</i> はマクロファージの細胞外小胞を介して胎盤・胎児の成長発育を阻害する ○棚井あいり ¹ , 福原 瑤子 ¹ , 江口 傑徳 ² , 河合 穂高 ³ , 池亀 美華 ¹ , 岡村 裕彦 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔形態, ² 岡大 院医歯薬 歯科薬理, ³ 岡大 院医歯薬 口腔病理)

微生物

2-P1-P01	<i>Candida albicans</i> のバルクオートファジーの代謝制御における役割の解明 ○堀江 哲郎 ¹ , 那須 優則 ² (日歯大 生命歯 衛生, ² 日歯大 生命歯 共同利用研究セ)
2-P1-P02	比較 Pan-genome 解析による口腔 <i>Veillonella</i> 新規エネルギー代謝経路の発見 ○眞島いつみ ¹ , 中澤 太 ² , 清浦 有祐 ¹ (奥羽大 歯 口腔病態解析制御, ² インドネシア大 歯 口腔生物)
2-P1-P03	口腔 <i>Neisseria</i> 属による亜硝酸産生活性と環境因子による影響 ○鷺尾 純平, 江副 和子, 佐藤 聡子, 安彦 友希, 小峰 英也, 柴田 怜, 田花 航平, 毛 雪竹, 高橋 信博 (東北大 院歯 口腔生化)
2-P1-P04	イミキモドが誘導する炎症性サイトカインおよびインターフェロン β (IFN- β) 産生におけるザイモザンのプライミング効果 ○玉井利代子, 清浦 有祐 (奥羽大 歯 口腔病態解析制御)
2-P1-P05	<i>Porphyromonas gingivalis</i> 標準菌株の再検証 ○才木桂太郎, 田代有美子, 山中 幸, 高橋 幸裕 (日歯大 生命歯 微生物)
2-P1-P06	<i>Prevotella intermedia</i> の <i>oxyR</i> 変異株解析による酸化ストレス耐性と宿主細胞侵入における影響 ○内藤真理子, 庄子 幹郎 (長大 院医歯薬 微生物)
2-P1-P07	太陽電池を接続した酸化チタン半導体の殺菌効果と細胞傷害性 ○佐藤 武則 ¹ , 浜田 信城 ² , 半田 慶介 ¹ (神歯大 院歯 口腔生化, ² 神歯大 院歯 口腔細菌)
2-P1-P08	<i>Arachnia rubra</i> SK-1 株の de novo 全ゲノムアセンブリ ○齋藤 真規, 桑原 紀子, 瀧澤 智美, 小林 良喜, 泉福 英信 (日大 松戸歯 感染免疫)
2-P1-P09	<i>Treponema denticola</i> の表層タンパクが運動性に与える影響の検討 ○国分 栄仁, 菊池有一郎, 柴山 和子, 石原 和幸 (東歯大 微生物)
2-P1-P10	<i>Porphyromonas gingivalis</i> における一過的な遺伝子発現系の構築 ○庄子 幹郎, 内藤真理子 (長大 院医歯薬 微生物)
2-P1-P11	<i>Streptococcus sanguinis</i> が血管内皮機能に及ぼす影響 ○瀧澤 智美, 桑原 紀子, 齋藤 真規, 小林 良喜, 泉福 英信 (日大松戸歯 感染免疫)
2-P1-P12	<i>Porphyromonas gulae</i> LPS 誘発炎症反応における緑茶ポリフェノールの抗炎症作用 ○稲葉 裕明, 吉田 翔, 仲野 道代 (岡大 院医歯薬 小児歯)
2-P1-P13	総義歯プラークモデルを用いた義歯洗浄剤の有効性評価 ○濱田 昌子, 五味 満裕 (小林製薬 (株) 中央研)
2-P1-P14	深層学習による歯周炎・インプラント周囲炎の識別方法の検討 ○渡辺 孝康 ¹ , 芝 多佳彦 ² , 中野 善夫 ¹ (日大 歯 化, ² 医科歯科大 院医歯 歯周病)
2-P1-P15	脂肪酸塩の <i>Streptococcus mutans</i> バイオフィルムに対する影響 ○倉橋 絢子 ¹ , 渡辺 清子 ² , 佐藤 武則 ³ , 稲葉啓太郎 ¹ , 半田 慶介 ³ , 浜田 信城 ¹ (神歯大 院歯 口腔細菌, ² 神歯大 院歯 教養教育, ³ 神歯大 院歯 口腔生化)
2-P1-P16	通所サービスを利用する在宅高齢者の舌常在細菌叢と全身及び口腔の健康との関連 ○朝川美加李 ¹ , 竹下 徹 ^{1,2} , 影山 伸哉 ¹ , 馬 佳楽 ¹ , 山下 喜久 ¹ (九大 院歯 口腔予防, ² 九大 院歯 OBT 研究セ)
2-P1-P17	ナノバブル水の曝露による唾液細菌叢への影響に関する予備的検討 ○相良 献 ¹ , 吉田 明弘 ² , 安細 敏弘 ¹ (九歯大 地域健康開発, ² 松歯大 微生物)
2-P1-P18	マクロライド系抗菌薬の作用による <i>Porphyromonas gingivalis</i> の遺伝子発現への影響 ○桑原 紀子 ¹ , 平塚 浩一 ² , 稲葉啓太郎 ³ , 浜田 信城 ³ , 泉福 英信 ³ (日大松戸歯 感染免疫, ² 日大松戸歯 生化, ³ 神歯大 院歯 口腔科学)
2-P1-P19	<i>Porphyromonas gingivalis</i> における 9 型分泌機構の発現制御 ○雪竹 英治, 庄子 幹郎, 中山 浩次, 内藤真理子 (長大 院医歯薬 微生物)
2-P1-P20	<i>Streptococcus mutans</i> のバクテリオシン nukacin に対する新規耐性因子の同定 ○松尾 美樹, Le Mi Nguyen-Tra, 小松澤 均 (広大 院医 細菌)
2-P1-P21	唾液中タンパク質の抗真菌作用と薬剤耐性解除作用の検討 ○福井佳代子 ¹ , 仲村健二郎 ¹ , 原 基 ¹ , 二宮 一智 ^{1,2,3} , 桑島 治博 ¹ , 今井あかね ^{4,5} (日歯大新潟 薬理, ² 日歯大 新潟病院 総合診療科, ³ 日歯大 新潟病院 口腔外科診療科, ⁴ 日歯大新潟 生化, ⁵ 日歯大新潟短大)

2-P1-P22	遊離歯肉移植術により角化粘膜を付与したインプラント周囲の細菌叢構成の変化 ○柴崎 真樹 ¹ , 下岸 将博 ¹ , 渡辺 孝康 ² , 丸川恵理子 ¹ (1'医科歯科大 院医歯 口腔再生再建, 2'日大 歯 化)
2-P1-P23	ヒト口腔関連培養細胞における Dectin-1 の役割 ○猪俣 恵 ¹ , 坂上 宏 ² , 大森 喜弘 ¹ (1'明海大 歯 微生物, 2'明海大 歯 歯科医学総合研)
免疫	
2-P1-P24	口腔内細菌脂質成分の自然免疫活性化能の解析 ○豊永 憲司 ¹ , 永尾 潤一 ^{1,2} , 岸川 咲吏 ¹ , 田中 芳彦 ^{1,2} (1'福歯大 機能生物 感染生物, 2'福歯大 口腔医学セ)
2-P1-P25	歯周病発症を制御する免疫制御機構の解明 ○永尾 潤一 ^{1,2} , 岸川 咲吏 ¹ , 豊永 憲司 ¹ , 根来 (安松) 香奈江 ¹ , 田崎 園子 ¹ , 田中 芳彦 ^{1,2} (1'福歯大 機能生物 感染生物, 2'福歯大 口腔医学セ)
2-P1-P26	歯周病原性細菌 <i>Fusobacterium nucleatum</i> 接種による大腸に及ぼす影響 ○戸田みゆき ¹ , 小林 良喜 ² , 河野 哲朗 ³ , 渡辺 新 ³ , 玉村 亮 ³ , 泉福 英信 ² , 岡田 裕之 ³ (1'日大 院松戸歯, 2'日大松戸歯 感染免疫, 3'日大松戸歯 組織)
2-P1-P27	マウス刺激脾細胞の IL-10 産生におよぼすミダゾラムの効果 ○神谷 真子 ¹ , 高山 英次 ² , 川木 晴美 ² , 梅村 直己 ² , 上野 恭平 ² , 高橋 萌 ³ , 智原 栄一 ⁴ , 村松 泰徳 ³ , 近藤 信夫 ² (朝日大 営 化学, 2'朝日大 歯 口腔生化, 3'朝日大 歯 口外, 4'朝日大 保 総合医科)
2-P1-P28	マウス舌癌モデルにおける Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) の浸潤に関わるケモカインの検討 ○森 一将 ¹ , 廣井 美紀 ² , 松本 安吏 ¹ , 牛尾 亮介 ¹ , 大森 喜弘 ² (1'明海大 歯 口腔顎顔面外科, 2'明海大 歯 微生物)
2-P1-P29	THP-1 細胞のプライミングによる歯周病原細菌の LPS に対する応答性の変化と LPS 認識プラットフォームの遺伝子発現変化の解析 ○片岡 嗣雄, 森 大気, 引頭 毅 (朝日大 歯 口腔微生物)
2-P1-P30	歯周病関連疾患の解明を目的とした歯周病モデルマウスの確立 ○小林 良喜, 瀧澤 智美, 齋藤 真規, 桑原 紀子, 泉福 英信 (日大松戸歯 感染免疫)
2-P1-P31	SARS-CoV-2 のエントリー分子の口腔内の局在について ○坂口和歌子 ¹ , 猿田 樹理 ² , 山本 裕子 ³ , 槻木 恵一 ¹ (1'神歯大 環境病理, 2'神歯大 教育企画, 3'神歯大短期大 歯科衛生)

発生・再生

2-P1-P32	デスモゾーム構成因子 Plakophilin 1 は核内移行シグナルを介して細胞増殖を制御する ○宮崎佳奈子 ¹ , 吉崎 恵悟 ¹ , 傳 堯 ¹ , 鮎田 啓太 ¹ , 湯田 智美 ¹ , 田 甜 ¹ , 水田 敢士 ¹ , 川原 純平 ¹ , 福本 敏 ² , 高橋 一郎 ¹ (1'九大 院歯 矯正, 2'九大 院歯 小児口腔)
2-P1-P33	体内の栄養状態を反映したマウス味細胞における mechanistic target of rapamycin (mTOR) 活性化 ○高井 信吾 ¹ , 岩田 周介 ^{1,2} , 實松 敬介 ^{1,2,3} , 重村 憲徳 ^{1,2} (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, 3'九大 OBT 研究セ)
2-P1-P34	多血小板フィブリン (PRF) 適応時における歯肉組織再生過程の解析 ○劉 宇豪 ¹ , 東 雅啓 ¹ , 高橋 聡子 ² , 高橋 俊介 ³ , 松尾 雅斗 ¹ (1'神歯大 院歯 口腔解剖, 2'神歯大 院歯 口腔生理, 3'神歯大 院歯 歯科薬理)
2-P1-P35	ヒト iPS 細胞より分化した副甲状腺細胞の同定と過形成メカニズムへのアプローチ ○中塚 隆介, 野崎 中成 (大歯大 薬理)
2-P1-P36	TGFβ3 ノックアウトマウスにおける EGFR 阻害剤投与による MAPK のリン酸化と口蓋裂の表現型の変化 ○杉山 明子, 滝川 俊也 (朝日大 歯 口腔解剖)
2-P1-P37	バルブ口酸曝露ラット胎子における頭部神経堤細胞 (NCC) の形成と移動の攪乱は、脳神経ネットワークの形成異常に寄与している～発達障りに随伴する食の困難の一因か?～ ○鈴木 礼子 ¹ , 今井 元 ² (1'奥羽大 歯 歯科薬理, 2'奥羽大 歯 生物)

10月10日(日) 12:10~13:10 P2

腫瘍

2-P2-P38	NFAT5 は高浸透圧下において EGFR の細胞内局在を変化させて口腔扁平上皮癌の進展を促進する ○吉本 尚平 ^{1,2} , 平田 雅人 ² , 橋本 修一 ¹ (1'福歯大 病態構造, 2'福歯大 口腔医学研究セ)
2-P2-P39	低接着性培養による口腔癌スフェロイド形成と3次元形態・免疫表現型の解析 ○工藤 朝雄, 埴 太宥, 川本沙也華, 佐藤かおり, 田谷 雄二, 添野 雄一 (日歯大 生命歯 病理)

2-P2-P40	中国産プロポリスによる抗 CD3 刺激脾細胞のサイトカイン産生の調節 ○安藤 恵 ¹ , 神谷 真子 ² , 池野久美子 ³ , 上野 恭平 ¹ , 梅村 直己 ¹ , 高山 英治 ¹ , 川木 晴美 ¹ , 中村源次郎 ³ , 近藤 信夫 ¹ (朝日大 歯 口腔生化学, ² 朝日大 経営 経営, ³ (株)秋田屋本店 研究開発)
2-P2-P41	口腔扁平上皮癌細胞に対する DNA メチル化転移酵素阻害剤とヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の併用処理による細胞傷害作用 ○牛尾 亮介 ^{1,2} , 廣井 美紀 ² , 松本 安吏 ^{1,2} , 森 一将 ^{1,2} , 大森 喜弘 ² (明海大 歯 口腔顎顔面外科, ² 明海大 歯 微生物)
2-P2-P42	YAP-PIEZO1 シグナルは口腔扁平上皮癌の細胞増殖を促進する ○長谷川佳那, 藤井 慎介, 清島 保 (九大 院歯 口腔病理)
2-P2-P43	がん幹細胞と iPS ○畑 隆一郎 ¹ , 居作 和人 ² , 前畑洋次郎 ³ (神歯大 院研究支援セ, ² 神歯大 分子生物, ³ 神歯大 歯科薬理)
2-P2-P44	転写因子 TFAP2E は口腔癌細胞の細胞周期進行における G2/M 遷移の制御に関与する ○藤原 恭子 ¹ , 酒井 嶺 ³ , 高橋 富久 ^{1,2} (日大 歯 解剖 I, ² 日大 総歯研 機能形態, ³ 日大 院歯 応用口腔科学)
2-P2-P45	CCN6 は口腔がん細胞の上皮間葉転換と破骨細胞形成を抑制する ○芳地 浩彰 ¹ , 西田 崇 ^{1,2} , 滝川 正春 ² , 久保田 聡 ¹ (岡大 院医歯薬 口腔生化学, ² 岡大 院医歯薬 歯先端研セ)
2-P2-P46	EGFR 過剰発現唾液腺癌に対する新しい光免疫療法 ○山口 晴香, 森田 貴雄 (日歯大新潟 生化学)
2-P2-P47	(取り下げ)
2-P2-P48	血管発生におけるグリシン二相性効果に関与するシグナル伝達経路 ○田村-辻 潔美, 佐藤 真理, 田村 正人 (北大 院歯 口腔分子生化学)

神経

2-P2-P49	神経障害性疼痛におけるミクログリア活性阻害の効果 ○寺山 隆司, 内部 健太 (広大 院医 顎顔面解剖)
2-P2-P50	疼痛刺激は島皮質自発活動を増強する ○大橋 一徳, 小林秀太郎, 小林 真之 (日大 歯)
2-P2-P51	トレッドミル走は, 社会的敗北ストレスによって増大した上部頸髄におけるミクログリア活性を低下させる ○長谷川真奈 ¹ , 山村 健介 ² , 藤井 規孝 ¹ (新潟大 医歯病 歯総診, ² 新潟大 院医歯 口腔生理)
2-P2-P52	セボフルランによる長時間の全身麻酔は 14 日齢のマウスの海馬神経細胞にアポトーシスを誘導する ○奥村 陽子 ¹ , 永井亜希子 ² , 池田やよい ² (愛院大 歯 麻酔, ² 愛院大 歯 解剖)
2-P2-P53	ラットを用いたトラネキサム酸誘発悪心の行動学的解析 ○藤田 麻由, 乾 賢, 吉澤 知彦, 船橋 誠 (北大 院歯 口腔生理)
2-P2-P54	ラット島皮質 GABA 作動性抑制性シナプスで生じる GABA _B 受容体依存的な LTP 誘発メカニズムの解明 ○山本 清文 ¹ , 千喜良 緑 ^{1,2} , 小林 真之 ¹ (日大 歯 薬理, ² 日大 歯 麻酔)
2-P2-P55	肥満病態下における歯周病感染が引き起こす認知機能障害の機序の検討 ○大植 香菜 ¹ , 山脇 洋輔 ² , 兼松 隆 ³ (広大 病院 歯科麻酔, ² 第一薬大 薬 薬物治療, ³ 九大 院歯 口腔機能分子)
2-P2-P56	歯周病菌由来 LPS 処理による神経系細胞のミトコンドリアへの影響 ○富田 和男, 五十嵐健人, 佐藤 友昭 (鹿大 院医歯 応用薬理)
2-P2-P57	低閾値開口反射の適応変化は咀嚼における最初のサイクルの咬合接触によって獲得された学習記憶に依存する ○松永 知子, 森田 匠, 横田たつ子, 平場 勝成 (愛院大 歯 生理)
2-P2-P58	歯髄幹細胞由来無血清培養上清は坐骨神経結紮モデルマウスの神経障害性疼痛を改善する ○加納 史也 ¹ , リュー ヤオ ^{1,2} , 橋本 登 ¹ , 松香 芳三 ³ , 田中 栄二 ² , 山本 朗仁 ¹ (徳大 院医歯薬 組織再生制御, ² 徳大 院医歯薬 顎顔面矯正, ³ 徳大 院医歯薬 顎機能再建)
2-P2-P59	口内炎モデルラットの三叉神経節における hepcidin の発現とその役割 ○人見 涼露 ^{1,2} , 篠田 雅路 ¹ , 小野野太郎 ² (日大 歯 生理, ² 九歯大 生理)
2-P2-P60	歯の移動が引き起こす開口反射興奮への TRP チャネル拮抗薬の歯肉塗布の効果 ○湯川 未郷 ¹ , 須田 直人 ¹ , 安達 一典 ² (明海大 歯 矯正, ² 明海大 歯 薬理)
2-P2-P61	ラット三叉神経節の三次元的な体部位局在と異所性疼痛の関連性についての研究 ○倉本恵梨子 ¹ , 福島 慎 ¹ , 岩井 治樹 ¹ , 山中 淳之 ¹ , 杉村 光隆 ² , 後藤 哲哉 ¹ (鹿大 院医歯 機能形態, ² 鹿大 院医歯 歯科麻酔全身管理)

2-P2-P62	メタロチオネイン-1, 2 欠損マウスの味覚嗜好性の変化 ○保浦 七愛 ^{1,2} , 乾 賢 ¹ , 蘇 韶懿 ¹ , 吉澤 知彦 ¹ , 十川 紀夫 ³ , 船橋 誠 ¹ (北大 院歯 口腔生理, ² 北大 院歯 矯正, ³ 松歯大 総歯研)
2-P2-P63	増粘剤への味物質の添加は味覚神経応答を変化させるか? ○中村 文彦 ¹ , 前田知馨代 ² , 安尾 敏明 ¹ , 諏訪部 武 ¹ , 玄 景華 ² , 碓 哲崇 ¹ (朝日大 歯 口腔生理, ² 朝日大 歯 障害者)
2-P2-P64	抗不整脈薬フレカイニドの酸味増強作用とその分子機構の解析 ○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} (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)
2-P2-P65	根管洗浄溶液のラット 4 基本味応答への影響 ○山崎 真帆 ¹ , 田中 雅士 ¹ , 碓 哲崇 ² , 河野 哲 ¹ (朝日大 歯 歯科保存 歯内療法, ² 朝日大 歯 口腔生理)
2-P2-P66	茸状乳頭を支配する三叉神経節細胞の受容野特性 ○佐藤 元, 安達 一典 (明海大 歯 薬理)
2-P2-P67	ラットの膝神経節細胞における ACE2, Tmprss2 および neuropilin-1 の発現について ○諏訪部 武, 安尾 敏明, 碓 哲崇, 中村 文彦 (朝日大 歯 口腔生理)
2-P2-P68	レプチンによる甘味細胞応答の抑制メカニズム ○吉田 竜介 (岡大 院医歯薬 口腔生理)
2-P2-P69	プロテアソーム阻害薬による末梢神経障害の評価 ○飯島 洋介 ¹ , 山田 美喜 ¹ , 佐野 元彦 ² , 堀江 憲夫 ¹ , 金子 貴広 ¹ , 坂上 宏 ³ (埼玉大 歯 歯口外, ² 星薬大 実務教育研, ³ 明海大 歯科医学総合研)
2-P2-P70	アドレノメデュリンによるマウス鼓索神経甘味応答増強機構の解明 ○岩田 周介 ^{1,3} , 吉田 竜介 ² , 高井 信吾 ¹ , 實松 敬介 ^{1,3} , 重村 憲徳 ^{1,3} , ニノ宮裕三 ⁴ (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 感覚生理・医療応用センシング部門, ⁴ Monell Chemical Senses Center)

10月11日(月) 12:10~13:10 P1

シグナル伝達

3-P1-P71	軟食飼育が若齢マウスの視床下部および海馬に及ぼす影響 ○古川 匡恵, 四釜 洋介, 松下 健二 (国立長寿医療研究セ 口腔)
3-P1-P72	MyD88 は雌 NOD マウスの唾液腺においてインターフェロン制御遺伝子の発現に関与する ○森 大気, 片岡 嗣雄, 引頭 毅 (朝日大 歯 口腔微生物)
3-P1-P73	骨形成異常ラットにおける小腸刷子細胞の免疫組織学的解析 ○安尾 敏明, 諏訪部 武, 中村 文彦, 碓 哲崇 (朝日大 歯 口腔生理)
3-P1-P74	S-PRG フィラー溶出液が TNF- α 刺激ヒト歯肉線維芽細胞の MMP 分泌に及ぼす影響 ○井上 博, 毛 丹, 合田 征司 (大歯大 生理)
3-P1-P75	BMP9 は PI3K-Akt シグナル経路を介して骨芽細胞の HIF-1 α 蛋白発現を誘導する ○松口 徹也, 千葉 紀香, 大西 智和 (鹿大 院医歯 口腔生化)
3-P1-P76	phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) による Nephronectin 遺伝子発現抑制は PKC シグナル伝達経路を介して行われる ○木下 三博, 山田 篤, 上條竜太郎 (昭大 歯 口腔生化)
3-P1-P77	神経ペプチド VIP-VPAC2 受容体シグナルは, がん細胞遊走を制御する新規の分子機構である ○浅野 智志, 吾郷由希夫 (広大 院医 細胞分子薬理)
3-P1-P78	NF- κ B, p65 の 534 番目のリン酸化は閉経後骨粗鬆症と体重増加に関与する ○黄 菲 ¹ , 高 靖 ¹ , 自見英治郎 ^{1,2} (九大 院歯 口腔細胞工学, ² 九大 院歯 OBT 研究セ)
3-P1-P79	ヒト茸状乳頭味蕾細胞におけるうま味受容体 <i>TAS1R1</i> 遺伝子のプロモーター領域の解析 ○豊野 孝, 松山 佳永, 片岡 真司, 瀬田 祐司 (九歯大 健康増進 解剖)

炎症

3-P1-P80	カルシウムチャンネルを介した <i>Porphyromonas gingivalis</i> ジンジバインによる COX-2 発現の分子機構 ○中山 真彰 ^{1,2} , 内藤真理子 ³ , 中山 浩次 ³ , 大原 直也 ^{1,2} (岡大 院医歯薬 口腔微生物, ² 岡大 歯先端研セ, ³ 長大院医歯薬 微生物)
----------	--

3-P1-P81	内耳前庭刺激を介する誤嚥性肺炎の予防・軽減効果 ○安部 力 (岐阜大 院医 生理)
3-P1-P82	<i>P. gingivalis</i> LPS が誘導する糖尿病性腎症モデルマウス腎における SGLT2 の過剰発現についての研究 ○梶原弘一郎 ¹ , 沢 禎彦 ² (福歯大 矯正, ² 岡大 院医歯薬 口腔機能解剖)
3-P1-P83	口内炎に関する基礎研究～ラット舌への炎症誘発～ ○竹内 麗理 ¹ , 松本 裕子 ² , 平塚 浩一 ¹ (日大松戸歯 生化, ² 日大松戸歯 薬理)
3-P1-P84	脂肪組織炎症で CCL19-CCR7 経路が制御する microRNA の同定 ○佐野 朋美 ¹ , Elsheikh Malaz ¹ , 溝上 顕子 ² , 兼松 隆 ¹ (九大 院歯 口腔機能分子, ² 九大 院歯 OBT 研究セ)

唾液・唾液腺

3-P1-P85	グルコースの味覚がヒトの咀嚼と唾液アミラーゼ活性に与える影響 ○安松 啓子 (東歯大 短大)
3-P1-P86	p130Cas はマウス顎下腺の顆粒性導管の発達に関与する ○李 傲男 ¹ , 高 靖 ¹ , 藤井 慎介 ² , 清島 保 ² , 自見英治郎 ^{1,3} (九大 院歯 口腔細胞工, ² 九大 院歯 口腔病理, ³ 九大 院歯 OBT 研究セ)
3-P1-P87	耳下腺腺房細胞における HaloTag 融合分泌タンパク質の選別輸送効率の測定 ○吉垣 純子, 横山 愛, 加藤 治 (日大松戸歯 生理)
3-P1-P88	グラミシジン穿孔パッチクランプ解析により表出される顎下腺腺房細胞 Cl ⁻ 分泌の維持に関与する SGLT1 活性 ○杉田 誠 (広大 院医 口腔生理)
3-P1-P89	老化促進マウスの耳下腺における脂肪酸輸送体 CD36 発現変化と唾液分泌への影響 ○佐藤慶太郎 ¹ , 大野 雄太 ² , 長瀬 春奈 ² , 柏俣 正典 ² , 安達 一典 ¹ (明海大 歯 薬理, ² 朝日大 歯 薬理)
3-P1-P90	傷害された唾液腺が発現する BMP2 の役割 ○横山 愛, 加藤 治, 吉垣 純子 (日大松戸歯 生理)
3-P1-P91	短鎖脂肪酸の経口摂取が唾液腺と唾液中 IgA レベルに与える影響 ○山本 裕子 ¹ , 猿田 樹理 ² , 坂口和歌子 ³ , 東 雅啓 ⁴ , 槻木 恵一 ³ (神歯大 短大 歯科衛生, ² 神歯大 教育企画, ³ 神歯大 環境病理, ⁴ 神歯大 口腔解剖)
3-P1-P92	ラット耳下腺の顆粒形成・成熟と臓器アミラーゼ比活性の関係 ○加藤 治, 横山 愛, 吉垣 純子 (日大松戸歯 生理)
3-P1-P93	液状飼料飼育が成長期ラット耳下腺内の神経組織発育に及ぼす影響について ○高橋 茂, 山本 恒之 (北大 院歯 口腔機能解剖)
3-P1-P94	ピロカルピン刺激による遺伝子発現変化における β アレスチン系の関与 ○森田 貴雄 ¹ , 根津 顕弘 ² , 山口 晴香 ¹ , 佐藤 律子 ^{1,3} , 谷村 明彦 ² (日歯大新潟 生化, ² 北医療大 歯 薬理, ³ 日歯大新潟短大 歯科衛生)
3-P1-P95	アセチルコリン刺激によって生じる顎下腺の Ca ²⁺ と血流オシレーションとその調節機構 ○根津 顕弘 ¹ , 森田 貴雄 ² , 石井 久淑 ³ , 谷村 明彦 ¹ (北医療大 歯 薬理, ² 日歯大新潟 生化, ³ 北医療大 歯 生理)
3-P1-P96	アビジン-ビオチン結合を利用した低濃度センサータンパク質のバイオセンサー担体への固定化法の開発 ○仙葉 慎吾, ジャハン アズメリー, 谷村 明彦 (北医療大 歯 薬理)

歯周組織

3-P1-P97	海生爬虫類モササウルス類化石を基にしたセメント質の起源の解析 ○三島 弘幸 ¹ , 千葉 敏江 ² , 見明 康雄 ³ (鶴大 歯 歯科理工, ² 鶴大 歯 中央電顕室, ³ 鶴大 歯 解剖 I)
3-P1-P98	骨移植時における微小循環変化と骨形成の形態学的観察 ○松尾 雅斗, 劉 宇豪, 松尾まりあ, 東 雅啓 (神歯大 口腔解剖)
3-P1-P99	マウスの抜歯後治癒におけるマクロファージ枯渇の影響 ○堀部 寛治, 西田 大輔, 中村 浩彰 (松歯大 口腔解剖)
3-P1-P100	低酸素環境の歯根膜細胞より産生される炎症性サイトカインがアルツハイマー病の病因因子産生に与える影響の解析 ○堤 貴司 ¹ , 鍛冶屋 浩 ² , 前芝 宗尚 ³ , 後藤加寿子 ⁴ , 岡部 幸司 ² (福歯大 総合歯, ² 福歯大 細胞分子生物 細胞生理, ³ 福歯大 咬合修復 有床義歯, ⁴ 福歯大 医療短大 歯科衛生)
3-P1-P101	多血小板フィブリンを用いた歯槽骨再生療法時の微小循環 ○松尾まりあ, 奥寺 俊允, 東 雅啓, 松尾 雅斗 (神歯大 口腔解剖)

3-P1-P102	卵巣摘出ラットモデルにおけるエストロゲン欠乏と歯周病進行の相関関係について一歯周病罹患組織のブラッシングによる損傷レベルの観察— ○天野カオリ ¹ , 稲葉啓太郎 ² , 松尾 雅斗 ³ (神歯大 解剖, ² 神歯大 微生物, ³ 神歯大 口腔解剖) <i>Porphyromonas gingivalis</i> 由来 LPS の慢性投与で発症する心機能障害に対する心臓型アデニル酸シクラーゼの抑制効果
3-P1-P103	○角田 通則 ¹ , 大貫 芳樹 ² , 吹田 憲治 ² , 松尾 一郎 ¹ , 早川 佳男 ³ , 清本 賢一 ¹ , 森井 彰伸 ¹ , 成山明具美 ⁴ , 五味 一博 ¹ , 奥村 敏 ² (鶴大 歯 歯周病, ² 鶴大 歯 生理, ³ 鶴大 歯 麻酔, ⁴ 鶴大 歯 小児歯)
3-P1-P104	臨床的効能を裏付ける硫酸化多糖類フコイダンの特性 ○岡 俊哉 ¹ , 今井あかね ^{2,3} (¹ 日歯大新潟 生物, ² 日歯大新潟 生化, ³ 日歯大新潟短大 歯科衛生)
3-P1-P105	酸化ストレス阻害薬 (アロプリノール) の <i>Porphyromonas gingivalis</i> 由来 LPS (PG-LPS) による心機能障害に対する効果 ○森井 彰伸 ¹ , 吹田 賢治 ² , 松尾 一郎 ¹ , 伊藤 愛子 ³ , 清本 賢一 ¹ , 角田 道則 ¹ , 成山明具美 ⁴ , 大貫 芳樹 ² , 五味 一博 ¹ , 奥村 敏 ² (鶴大 歯 歯周病, ² 鶴大 歯 生理, ³ 鶴大 歯 矯正, ⁴ 鶴大 歯 小児歯)

10月11日(月) 12:10~13:10 P2

歯牙・歯髄

3-P2-P106	象牙質形成および再生過程における CD146 の局在 ○渋谷 徹 ¹ , 細矢 明宏 ² , 建部 廣明 ² , 高橋 昌己 ¹ , 入江 一元 ¹ (北医療大 歯 解剖, ² 北医療大 歯 組織)
3-P2-P107	小白歯と大白歯の咬頭の相同性に関する発生学的検討 ○ハイデル エムデイヤシン ^{1,2} , 岩井 治樹 ¹ , 倉本恵梨子 ¹ , 後藤 哲哉 ¹ , 中村 典史 ² , 山中 淳之 ¹ (鹿大 院歯 機能形態, ² 鹿大 院歯 顎顔面外科, ³ 国立科学博物館 人類研究)
3-P2-P108	象牙芽細胞における細胞膜 Ca ²⁺ -ATPase は象牙質石灰化を調節する ○木村 麻記 ¹ , 黄地 健仁 ¹ , 佐藤 涼一 ² , 国分 栄仁 ³ , 黒田 英孝 ^{1,4} , 安藤 正之 ¹ , 河野 恭佑 ¹ , 野村 幸恵 ¹ , 澁川 義幸 ¹ (東歯大 生理, ² 東歯大 衛生, ³ 東歯大 微生物, ⁴ 神歯大 院歯 歯科麻酔)
3-P2-P109	髄床底部への意図的穿孔形成がマウス臼歯再植後の歯髄治癒過程に及ぼす影響 ○佐野 拓人 ^{1,2} , 大島 邦子 ³ , 岡田 康男 ² , 佐藤 拓一 ¹ , 大島 勇人 ⁴ (新潟大 院保健 臨床化学, ² 日歯大新潟 病理, ³ 新潟大 院歯 小児歯, ⁴ 新潟大 院歯 硬組織形態)
3-P2-P110	MTA により誘導された根尖部硬組織の病理組織学的評価 ○宮本 侑果 ¹ , 木方 一貴 ² , 松岡 太相 ¹ , 中尾 寿奈 ¹ , 江原 道子 ¹ , 落合 隆永 ¹ , 河野 哲 ² , 永山 元彦 ¹ (朝日大 歯 口腔病理, ² 朝日大 歯 保存)
3-P2-P111	根面う蝕モデル：酸による根面内性タンパク分解酵素の活性化 ○櫻井 泉 ^{1,2} , 真柳 弦 ^{1,3} , 山田 聡 ² , 高橋 信博 ¹ (東北大 院歯 口腔生化, ² 東北大 院歯 歯内歯周治療, ³ 東北大 院歯 歯学イノベーションリエンジンセ 先端教育開発)
3-P2-P112	顕微フーリエ変換赤外分光法による銀染色を施したう蝕象牙質の観察 ○桑田 (楠瀬) 隆生 ¹ , 渡辺 新 ² , 布施 恵 ³ , 楠瀬 有紗 ⁴ (日大松戸歯 教養生物, ² 日大松戸歯 組織, ³ 日大松戸歯 教養化学, ⁴ 大塚くすのせ歯科)
3-P2-P113	矯正用ブラケット撤去後のエナメル質耐酸性に関する研究 ○東理 頼亮 ¹ , 長谷川 優 ² (日歯大新潟 病理, ² 日歯大新潟短期 歯科衛生)
3-P2-P114	小児の概日リズム特性と齲蝕発生リスクの相関 ○西出 真也 ¹ , 八若 保孝 ² (北医療大 リハ 生理, ² 北大 院歯 小児障害者)

骨・軟骨・骨代謝

3-P2-P115	Keap1 遺伝子欠損マウスにみられる軟骨内骨化の抑制：X線μCT および水中での大気圧走査電子顕微鏡による観察 ○坂井 詠子 ¹ , 佐藤 主税 ² , 佐藤 真理 ² , Farhana Fatima ¹ , 筑波 隆幸 ¹ (長大 院歯 歯科薬理, ² 産業技術総合研 健康医工学研究)
3-P2-P116	カピバラ大腿骨の構造特性 ○笠原 典夫 ¹ , 菊池 布恵 ¹ , 小川 雄大 ¹ , 北村 啓 ¹ , 松永 智 ² , 阿部 伸一 ² , 山本 仁 ¹ (東歯大 組織発生, ² 東歯大 解剖)
3-P2-P117	22q11.2 欠失症候群モデルの初代軟骨細胞におけるヘテロ型 DGCR2 遺伝子の発現解析 ○梶原 景正 (東海大 医 分子生命)
3-P2-P118	破骨細胞の骨吸収に及ぼす TGF-β の影響 ○唐木田丈夫, 大熊理紗子, 山越 康雄 (鶴大 歯 生化)
3-P2-P119	口腔インプラント周囲に出現する osteonal bone における骨の質的因子 ○松永 智 ¹ , 笠原 典夫 ² , 北村 啓 ² , 小川 雄大 ² , 廣内 英智 ¹ , 山本 仁 ² , 阿部 伸一 ¹ (東歯大 解剖, ² 東歯大 組織発生)

3-P2-P120	RNA-sequencing を用いた骨細胞におけるメカニカルストレス応答機構の解析 ○藤田 尚正 ^{1,2} , 田村-辻 潔美 ² , 田村 正人 ² , 佐藤 真理 ² (¹北大 院歯 麻酔, ²北大 院歯 口腔分子生)
3-P2-P121	CGRP は破骨細胞分化を抑制する転写因子である Bcl6 および MafB の発現上昇を介して破骨細胞分化を抑制する ○石塚 恭子 (愛院大 歯 薬理)
3-P2-P122	骨芽細胞分化における Hypoxia が及ぼす影響の解析 ○千葉 紀香 ¹ , 成 昌典 ² , 大西 智和 ¹ , 松口 徹也 ¹ (¹鹿大 院医歯 口腔生, ²鹿大 院医歯 顎顔面外科)
3-P2-P123	Annexin A5 ノックアウトマウスは咬合力誘導性の骨増大, エナメル質咬耗ならびに咬筋肥大を示す ○出野 尚 ¹ , 望月 文子 ² , 小松浩一郎 ¹ , 中島 和久 ¹ , 雨宮 俊彦 ³ , 新井 嘉則 ³ , 井上 富雄 ² , 二藤 彰 ¹ (¹鶴大 歯 薬理, ²昭大 歯 口腔生理, ³日大 歯 放射線)
3-P2-P124	マウス脛骨骨端板軟骨の septoclast における integrin $\alpha 2$ の局在 ○坂東 康彦 ¹ , 小野澤 豪 ^{1,2} , 長坂 新 ¹ , 崎山 浩司 ¹ , 天野 修 ¹ (¹明海大 歯 解剖, ²明海大 歯 口腔顎顔面外科)
3-P2-P125	急速上顎拡大が鼻閉感に与える影響の臨床学的検討 ○中村 千織 ^{1,2} , 末光 正昌 ³ , 田口千恵子 ⁴ , 中山 光子 ³ , 久山 佳代 ³ (¹日大院松戸 口腔病理, ²医療法人社団千旺会 ちおり歯科, ³日大松戸歯 病理, ⁴日大松戸歯 衛生)

筋

3-P2-P126	レニン-アンジオテンシン系が歯周病菌由来 LPS による心筋線維化に及ぼす影響 ○清本 賢一 ¹ , 吹田 憲治 ² , 大貫 芳樹 ² , 松尾 一郎 ¹ , 角田 通則 ¹ , 森井 彰伸 ¹ , 伊藤 愛子 ³ , 石川美紗緒 ⁴ , 奥村 敏 ² , 五味 一博 ¹ (¹鶴大 歯 歯周病, ²鶴大 歯 生理, ³鶴大 歯 矯正, ⁴鶴大 歯 解剖 I)
3-P2-P127	筋の壊死と再生に対する HMGB1 の働き ○崎山 浩司 ¹ , 小野澤 豪 ^{1,2} , 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 I)
3-P2-P128	Mitf 遺伝子変異は酸化ストレスにより咬筋組織リモデリングを誘導する ○成山明具美 ¹ , 大貫 芳樹 ² , 吹田 憲治 ² , 伊藤 愛子 ³ , 石川美佐緒 ⁴ , 松尾 一郎 ⁵ , 早川 佳男 ⁶ , 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)
3-P2-P129	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筋のアポトーシスを引き起こす ○伊藤 愛子 ¹ , 大貫 芳樹 ² , 吹田 憲治 ² , 石川美佐緒 ³ , 松尾 一郎 ⁴ , 早川 佳男 ⁵ , 成山明具美 ⁶ , 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, ⁶鶴大 歯 小児歯)

解剖

3-P2-P130	口唇形成術にて考慮する必要のある動静脈吻合 ○山本 将仁 ¹ , 高木 貴博 ¹ , 山本悠太郎 ¹ , 廣内 英智 ¹ , 崎山 浩司 ² , 阿部 伸一 ¹ (¹東歯大 解剖, ²明海大 解剖)
3-P2-P131	炭酸アパタイト系人工骨を用いた歯槽骨再生時の微小循環への影響 ○東 雅啓, 松尾まりあ, 劉 宇豪, 松尾 雅斗 (神歯大 口腔解剖)
3-P2-P132	MDF 高強度純チタンのインプラント体への応用 ○財部 祐輔 ¹ , 東 雅啓 ² , 星 憲幸 ¹ , 木本 克彦 ¹ , 松尾 雅斗 ² (¹神歯大 院歯 クラウンブリッジ補綴, ²神歯大 院歯 口腔解剖)
3-P2-P133	前喉頭蓋領域の組織学的構造解析から導き出される新たな嚥下メカニズムの構築 ○北村 啓 ¹ , 菊池 布恵 ¹ , 小川 雄大 ¹ , 笠原 典夫 ¹ , 松永 智 ² , 山本 将仁 ² , 阿部 伸一 ² , 山本 仁 ¹ (¹東歯大 組織発生, ²東歯大 解剖)
3-P2-P134	成体イモリの顎再生と解剖・組織学的解析 ○田谷 雄二, 川本沙也華, 埴 太宥, 工藤 朝雄, 佐藤かおり, 添野 雄一 (日歯大 生命歯 病理)

抄 録



JAOB JAPANESE ASSOCIATION FOR
ORAL BIOLOGY since 1958

ロッテ基金特別講演 (SL1, SL2)

ライオン学術賞受賞講演 (L1, L2)

歯科基礎医学会学会奨励賞受賞講演 (JR-1~JR-4)

教育講演 (ES)

メインシンポジウム (MS1-1~MS3-3)

日韓シンポジウム (JKS-1~JKS-4)

歯科基礎アカデミーシンポジウム (AS-1~AS-4)

先端歯学国際教育研究ネットワーク共催シンポジウム (AD-1~AD-4)

歯科基礎医学会・日本唾液腺学会共催シンポジウム (KDS-1~KDS-5)

日本歯科理工学会・歯科基礎医学会イノベーションロードマップの合同シンポジウム (IRS-1~IRS-4)

日本骨形態計測学会共催シンポジウム (BS-1~BS-6)

市民公開講座 (PL)

アップデートシンポジウム (US1-1~US6-5)

一般演題 (ポスター)

SL1 歯科基礎医学者の皆様に聞いて頂きたい極限環境生物や地球外生命の面白さ

○高井 研

海洋研究開発機構 超先鋭研究開発部門

歯科基礎医学会の皆様、初めまして、海洋研究開発機構（JAMSTEC）の高井研と申します。この度は、神奈川歯科大学で行われる第63回歯科基礎医学会総会でお話させて頂く機会を頂きまして有り難うございます。準備委員長から「摂食活動を含め歯科、口腔に少しでも関連するような研究の話を！」という熱烈なお誘いを受けたのですが、ハッキリ言って「それは無理！」とお答えするしかすべはありません。私の研究は、深海や地下といった地球の暗黒極限環境に生息する微生物あるいは微生物と共生する動物、が対象で、ほとんど摂食とは無縁な、もっと言えば「口もなければ肛門もない」、生物です。さらに言うと、私のライフワークといえる研究は、「生命とは何か」とか「生命の起源」みたいな雲を掴むようなテーマでして、準備委員長のご要望にお応えすることは到底できそうにありません。それでも、歯科基礎医学会の皆様が私の研究に全く興味を持ちそうにないか？と言われれば、「おそらくそんなことはあるまい」と確信します。なぜなら、私の研究を語る対象の多くは、専門的な教育や仕事をしていない一般の方々であり、小学生から高校生である場合も多いからです。

というわけで、へたに歯科基礎医学会の話題に阿ることはせず、初球からど真ん中のストレート、つまり私の研究のメインピックである「極限環境生物や地球外生命探査の面白さ」を投げたいと思います。ぜひ、日々の研究や仕事の事を一旦忘れて、超純粋・基礎科学のワクワク感を楽しんで頂けたらと思います。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Enchantment under the Sea

○Takai K

JAMSTEC X-star

Hi, attendants in 63th meeting of Japanese Association for Oral Biology in Yokosuka!

I am Ken Takai, a geomicrobiologist from JAMSTEC, of which main campus is located here in Yokosuka. I was requested from organizers of this invited talk session to give a talk, which is something related with oral microbiology and feeding behavior of marine animals. However, I have to say that it is impossible for me because my main research targets are extremophilic microorganisms and deep-sea chemosynthetic animals that have no mouth and anus, and feeding behaviors.

I think that most the attendants in 63th meeting of Japanese Association for Oral Biology are involved in biological science and are also interested in basic questions of biology such as “limits of life”, “what is life” and “origin of life in the Earth and Universe”. I would like to talk about these topics based on my research in deep-sea and deep subsurface.

My talk title in English is “Enchantment under the Sea”, taken from a famous Hollywood’s movie “Back To The Future” in 1985. Some of you know it. Yes, “Enchantment under the Sea” is the name of dance party where the parents of Marty McFly (Michael J. Fox) fell into love in the movie. So what? My research is indeed “Enchantment under the Sea”.

So, I would be very appreciative if you could enjoy “Enchantment under the Sea” in my talk. See you soon.

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

SL2 腸内微生物叢最前線—with/post コロナ時代の生命科学

○内藤 裕二

京府医大 院医 生体免疫栄養

腸内微生物叢研究が盛んである。1983年胃潰瘍の原因菌としてヘリコバクター・ピロリ菌が報告されたが、市民権を得るには長い年月を必要とした。30年後の2013年にピロリ菌感染胃炎に対して保険治療が認可された。新型コロナウイルスが世界中に拡大すると、全世界の科学者がこのウイルスを撲滅するために立ち上がり、研究の方向性が急速に変化する時代を過ごすことに貴重な経験をしている。おそらく、本講演をしている時にはワクチン接種後かもしれない。さて、2000年以降、腸内細菌叢をメタゲノム解析する手法が確立、普及し、多数の画期的な成果が報告されている。その多くにはこれまでの医学研究の常識を翻すものも少なくない。胃がんの原因がピロリ菌であるとの発表に対して胃がん研究者の多くが否定的であったと同じように、各種疾病の病態と細菌叢の密接な関連を受け入れることができていない。しかし、無菌マウスを使ったノトバイオト実験、精密機器による腸内細菌代謝物分析、糞便移植による成果などは、着実に、ヒトは腸内微生物を中心とした生命共同体であることを明らかにしてきた。超高齢化社会を迎えている日本であるが、世界幸福度ランキングでは日本は58位(2019年)と低迷している。平均寿命は直線的に伸びているものの、決して持続可能な多面的幸せ(Well-being)ではないようである。本講演では、with/post コロナ時代において国民の健康を守る上で生命科学の果たす役割の重要性を指摘しながら、臨床医としての視点から経験した現状分析のなかで、これまでの成果を紹介し、歯科領域、口腔領域の諸先生方との接点を見出したい。

【利益相反】講演料(武田薬品工業(株)、マイランEPD合同会社、持田製薬(株)、EAファーマ(株)、田辺三菱製薬(株)、大塚製薬(株))、共同研究(ダイセル(株)、太陽化学(株))、寄附講座(太陽化学(株))

Forefront of gut microbiome research—Life science with/post CORONA era

○Naito Y

Human Immunol Nutr Sci, Kyoto Prefect Univ Med

Research on gut microbiota is active. *Helicobacter pylori* was reported as the causative agent of gastric ulcer in 1983, but it took many years to obtain citizenship. In 2013, treatment was approved for *Helicobacter pylori*-infected gastritis by health insurance. As the new coronavirus spreads around the world, we have had the valuable experience to eradicate the virus. Metagenomic analysis for the gut microbiota has been established and spread, and many epoch-making results have been reported. However, many researchers were unable to accept the close link between the pathophysiology of various diseases and the gut microbiota. Gnotobiotic experiments using germ free mice, analysis of intestinal bacterial metabolites, and results from fecal transplantation have steadily revealed that humans are a life community centered on gut microbiota. Japan is facing a super-aging society, but Japan is sluggish at 58th place (2019) in the world happiness ranking. Life expectancy is increasing linearly, but it does not appear to be sustainable well-being. In this lecture, while pointing out the importance of the role of life science in protecting the health of the people in the with/post corona era, we will introduce the results so far in the analysis of the current situation experienced from the perspective of a clinician. However, I would like to find contact points with teachers in the dental and oral fields.

Conflict of Interest: YN received a collaboration research fund from Taiyo Kagaku Co., Ltd. and Daicel Co., Ltd., received lecture fees by Takeda Pharma. Co. Ltd., Mylan EPD Co., Mochida Pharma. Co. Ltd., EA Pharma. Co. Ltd., Otsuka Pharma. Co. Ltd., and Tanabe-Mitsubishi Pharma. Co. Ltd., and endowed donation department by Taiyo Kagaku Co., Ltd.

L1 口腔顔面痛の病態生理

○篠田 雅路

日大 歯 生理

“痛み”は生体防御の警告信号であり生命を維持するために極めて重要な感覚である。しかし、三叉神経障害性疼痛、舌痛症、癌性疼痛などの口腔顔面痛は生体防御としての役割はなく、治療対象とすべき疾患である。口腔顔面領域への侵害刺激は三叉神経節ニューロンで受容され、三叉神経脊髄路核尾側亜核に伝達される。その侵害情報は上行し、視床を経て大脳皮質体性感覚野や大脳辺縁系に伝達され、はじめて「痛み」を認知する。現在では、三叉神経の損傷や舌癌などによって、この末梢から中枢神経系に至る侵害情報伝達系になんらかの可塑的变化が生じ、口腔顔面痛が発症すると考えられている。われわれは、口腔顔面痛発症には侵害情報伝達系の主役となる神経細胞だけでなくサテライト細胞、アストロサイト、ミクログリア、マクロファージといった多くの細胞の可塑的变化が口腔顔面痛に関与していることを報告してきた。

たとえば、口腔顔面領域の炎症によって、炎症部位に投射する三叉神経節ニューロンからのNGFシグナル増強による非炎症部投射TRPV1陽性三叉神経節ニューロンの増加やCx43を介したサテライト細胞の活性化に伴うIL-1 β 放出増加による非炎症部投射三叉神経節ニューロンの興奮性増大が起り、異所性口腔顔面痛が発症することを報告した。また、三叉神経脊髄路核尾側亜核においては、Fractalkineシグナルによるp38を介したIL-1 β 放出増加による二次ニューロンの興奮性増大が異所性口腔顔面痛発症に関与することをつきとめた。さらに、舌癌発症初期において、Endothelinシグナルによる舌癌細胞から放出される β -endorphinが舌投射ニューロンの興奮性を減弱させることにより、舌癌による疼痛の発症が抑制されていることを解明した。

本講演では、これまでに我々が解明してきた口腔顔面痛の病態生理について概説したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Pathophysiological mechanisms of orofacial pain

○Shinoda M

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

“Pain” is a warning signal for body defense mechanisms and is an extremely important sensation for life support. However, orofacial pain is not vital sensation, but a disease. Noxious stimuli to the orofacial region are received by trigeminal ganglion neurons, the nociceptive information is transmitted to the somatosensory cortex and the limbic system via the spinal trigeminal nucleus and the thalamus, which in turn triggers the recognition of “pain” in the orofacial region. We have reported that orofacial pathological changes such as trigeminal nerve injury or tongue cancer cause some plastic changes in the nociceptive signaling pathway, resulting in orofacial pain. Especially, we have elucidated that orofacial pain is not only induced by the plastic changes in the neuronal properties of nociceptive signaling pathways, but plastic changes in various cells such as satellite glial cells, astrocytes, microglia, and macrophages also play an important role. In this lecture, we will outline the pathophysiology of orofacial pain that we have elucidated so far.

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

L2 細胞内外環境による硬組織形成細胞の分化制御機構

○依田 浩子

新潟大 院医歯 硬組織形態

細胞の分化運命は、細胞を取り巻く細胞外微小環境からのシグナルや、細胞内の環境要因により導かれる遺伝子発現によって決定されていく。特に細胞内エネルギー代謝は、細胞動態制御の基盤となる重要な機構であり、細胞増殖・分化に必要なエネルギーが計画的に供給されることにより、正常な器官発生が遂行されていく。その破綻は発育異常や癌などの疾患発症の要因となる。我々は硬組織形成細胞の細胞内環境として、エネルギー代謝の主軸である糖代謝に着目し、その調節機構や代謝異常と歯、骨、軟骨形成との関連性について、グルコースの取り込み調節、グリコーゲン代謝、オートファジーと細胞動態に焦点を当てて研究を進めてきた。歯の形成過程では、エナメル上皮細胞におけるグルコース輸送体の発現が時期特異的に厳密に制御されていることを見出し、グルコース取り込み障害などの糖代謝異常により歯胚の発育停止や矮小化、エナメル質の形成不全を生じることを明らかにした。さらに低酸素、低栄養や熱ショックなどの細胞外要因が歯の形態形成に異常をきたすことより、それらのストレス応答機構であるオートファジーが硬組織形成細胞の分化制御に果たす役割についても解析している。エナメル上皮細胞におけるオートファジーの役割を解明するために、上皮特異的オートファジー不全マウスを作成し解析した結果、エナメル器の分化異常と歯原性腫瘍の発生が確認されている。また、軟骨特異的オートファジー不全マウスでは、軟骨細胞のグリコーゲン代謝に異常をきたし、軟骨細胞の増殖・分化の障害により長管骨が顕著に短縮することも報告済みである。今後は硬組織疾患の病態解明と予防、硬組織再生医療への応用も視野に入れて研究を展開していきたい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Intra- and extracellular environments regulate the differentiation of hard tissue-forming cells

○Ida-Yonemochi H

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

Cell fate is determined by the signals from intra- and extracellular environments. In particular, intracellular energy metabolism is an important mechanism to regulate cell dynamics. During organogenesis, adequate energy will be supplied to cells for their proliferation and differentiation. We have been studying the regulation of energy metabolism focusing on glucose metabolism in tooth, bone and cartilage formation. We found that glucose uptake and its metabolic pathway were strictly regulated during ameloblast differentiation, while the disorder of its metabolism induced tooth developmental arrest and amelogenesis imperfecta. Furthermore, we are analyzing the function of autophagy in hard tissue formation as a stress responsive mechanism, because extracellular factors such as hypoxia, low nutrition and heat shock also affect tooth morphogenesis. The epithelial cell-specific autophagy deficient mice showed disorder of the enamel organ and tumorigenesis of odontogenic epithelium. Moreover, we already reported that loss of autophagy in chondrocytes disturbed glycogen metabolism and cell proliferation, causing severe bone growth retardation in autophagy-deficient mice. We aim to develop this study to obtain a better understanding of the pathogenesis of hard tissue diseases and to contribute to the regenerative medicine of hard tissues.

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

JR-1 涙腺におけるアルギナーゼ1の発現低下が涙液分泌低下をもたらす

○大野 雄太

朝日大 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、非炎症性因子であるアルギナーゼ 1 に着目して解析を進めたところ、アルギナーゼ 1 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、アルギナーゼ 1 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。

結論として、雄性 NOD マウスにおいて涙腺炎の有無に関わらず、アルギナーゼ 1 の発現低下が涙液分泌量を低下させることが明らかとなった。アルギナーゼ 1 による外分泌機序の解明には更なる研究が必要であるが、アルギナーゼ 1 はシェーグレン症候群の外分泌障害における新たな治療ターゲットとなり得る。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Decreased expression level of arginase 1 in lacrimal glands induces lacrimal hyposalivation

○Ohno Y

Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent

Sjögren's syndrome (SS) induces lacrimal and salivary hyposalivation (dry syndrome), which leads to reduced quality of life. However, the cause of lacrimal and salivary hyposalivation remains unknown, even though many studies have been conducted from the perspective of inflammation. Here, we hypothesized that a non-inflammatory factor induces lacrimal hyposalivation in SS pathophysiology.

To elucidate such a factor, we conducted transcriptome analysis of the lacrimal glands in male non-obese diabetic (NOD) mice as a SS model. The result revealed that only four genes, including arginase 1, were downregulated in the lacrimal glands of male NOD mice after onset of lacrimal hyposalivation and dacryoadenitis. Furthermore, non-dacryoadenitis-type NOD mice were used to investigate the relationships among arginase 1 expression, lacrimal hyposalivation and dacryoadenitis. Non-dacryoadenitis-type NOD mice showed reduced tear secretion and low expression level of arginase 1. In addition, in BALB/c mice, an arginase 1 inhibitor reduced tear secretion.

In conclusion, a non-inflammatory factor, arginase 1, is involved in lacrimal hyposalivation in male NOD mice, regardless of dacryoadenitis status. While the mechanism by which arginase 1 drives fluid secretion must await further investigation, arginase 1 could be a therapeutic target for dry syndrome in SS.

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

JR-2 DEL-1 を介したエリスロマイシンの抗炎症メカニズム解明

○前川 知樹

新潟大 院医歯 高口セ

マクロライド系抗菌薬のエリスロマイシンは、抗菌作用とともに免疫調整作用や炎症抑制効果を持つとされており、肺炎や歯周炎などの粘膜疾患治療に対して頻用されていた。さらに新型コロナウイルス肺炎においてもマクロライド系抗菌薬の効果を示した臨床報告がなされている。しかしながらこれら抗炎症作用メカニズムは不明であった。我々はエリスロマイシンが抗炎症作用分子である DEL-1 の発現制御を介して抗炎症作用および骨破壊抑制効果を発揮しているのではないかと考え、歯周炎と肺炎を対象とした実験をおこなった。

エリスロマイシンを血管内皮細胞に添加したところ、DEL-1 を誘導することが明らかとなった。続いて、肺炎を実験的に起こした肺炎モデルマウスにエリスロマイシンを投与したところ、エリスロマイシン投与群では DEL-1 の産生と、好中球の減少および肺胞の形態維持が認められた。さらに、マウスに致死性の肺炎を起こしたモデルにおいては、エリスロマイシン投与により生存率が上昇することが明らかとなった。歯周炎を誘導した歯周炎モデルマウスに対し、エリスロマイシンを投与した結果、歯肉の炎症が抑制されるとともに、骨の吸収も抑制を認めた。歯の周りの結合組織および骨を免疫染色にて解析すると、歯根膜に DEL-1 の産生と好中球の減少が認められた。DEL-1 欠損マウスを作成し同様な実験を行ったところ、エリスロマイシンの肺炎および歯周炎抑制効果が認められなかった。すなわち、エリスロマイシンは DEL-1 依存的に機能することが示唆された。

エリスロマイシンの作用機序を検索したところ、血管内皮細胞上の GHSR に作用していることを新規に見出した。GHSR 下流の細胞内シグナルを検証したところ、JAK2-MAPKp38 経路を活性化し、DEL-1 を誘導していることが明らかとなった。DEL-1 は、肺でのエフィロサイトーシスおよび間葉系幹細胞の増殖・分化促進作用を持つことから、ポストコロナ時代における障害された肺組織の再生に寄与する可能性が高い。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Erythromycin inhibits neutrophilic inflammation and mucosal disease by upregulating DEL-1

○Maekawa T

Cent for 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 2 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 developmental endothelial locus-1 (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 protected against lethal pulmonary inflammation and inflammatory periodontal bone loss, these protective effects of ERM were abolished in *Dell*-deficient mice. ERM induced DEL-1 transcription that was mediated by JAK2-MAPK p38 pathway. The ability of ERM to upregulate DEL-1 may lead to 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.

JR-3 糖尿病に合併する唾液分泌障害と唾液腺の副交感神経性血流増加反応との関連性

○佐藤 寿哉, 石井 久淑

北医療大 歯 生理

糖尿病ではしばしば唾液分泌障害が認められ、口腔内環境の悪化を招く。唾液の水成分は血漿に由来するため、糖尿病が唾液腺の血流動態に与える影響は、唾液分泌障害のメカニズムに極めて重要に関わると考えられる。我々はこれまでに口腔顔面領域の感覚神経の求心性入力に唾液腺に唾液分泌と共に急峻かつ広範囲に及ぶコリン・非コリン作動性の副交感神経性血流増加反応を誘発することを報告しており、唾液分泌時の血流調節における副交感神経の重要性を提唱している。しかしながら、糖尿病が副交感神経性血流増加反応に与える影響の詳細は明らかにされていない。そこで本研究では2型糖尿病モデルラットを用いて、糖尿病が三叉神経入力で生じる唾液腺の副交感神経性血流増加反応に与える影響について検討した。

その結果、糖尿病は1) 三叉神経入力で反射的に誘発される耳下腺の副交感神経性血流増加反応および唾液分泌量を特異的に減少させる、2) 唾液腺の副交感神経性血流増加反応に重要なムスカリン受容体の作動薬投与による唾液腺の血管拡張応答を低下させる、3) 唾液腺のムスカリン M1 および M3 受容体の mRNA 発現を低下させることが明らかになった。

以上より、糖尿病による副交感神経性血流増加反応の障害が糖尿病に合併する唾液分泌障害のメカニズムに重要な役割を果たしていることが示唆され、唾液分泌障害の治療方法の確立に向けた新たなアプローチの可能性が提示された。

【利益相反】 演題発表に関連して開示すべき COI はありません。

Relationship between impaired parasympathetic vasodilation and hyposalivation associated with diabetes mellitus

○Sato T, Ishii H

Div Physiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

Reduction in salivation is one of the common complications of type 2 diabetes mellitus (DM). The effect of DM on hemodynamics in salivary glands is considered to be extremely important for hyposalivation because salivary fluid is derived from the plasma. The stimulation of sensory afferents from the trigeminal nerve in the orofacial area induces rapid cholinergic and non-cholinergic parasympathetic vasodilation in the salivary glands along with salivation and thereby indicating the role of parasympathetic nerves in the regulation of glandular hemodynamics during salivation. However, the effect of DM on parasympathetic vasodilation has not been clarified so far. Therefore, this study aimed to investigate the effect of DM on glandular parasympathetic vasodilation caused by inputs from the trigeminal nerve using the type 2 DM rat model. The following changes were seen in the rats: decreased parasympathetic vasodilation and salivation in the parotid gland following stimulation of the trigeminal nerve; decreased vasodilator response following the administration of muscarinic receptor agonists; and decreased mRNA expression levels of M1 and M3 muscarinic receptors. These results suggest that impaired glandular parasympathetic vasodilation plays an important role in the mechanisms involved in diabetic hyposalivation; additionally, they provide new insights into improving this condition.

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

JR-4 グリシンにより誘導された細菌メンブレンベシクルの性質とアジュバント活性の解析

○平山 悟^{1,2}, 中尾 龍馬¹

¹感染研 細菌第一, ²新潟大 院医歯 微生物

メンブレンベシクル (MV) はナノサイズの膜小胞であり, あらゆる細菌が産生する. MV には細菌細胞に由来する様々な物質が含まれることから, 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, グリシンによって細菌の MV 産生が顕著に増加することを見出した. そこで今後の応用展開を見据えて, グリシン誘導 MV の性質とともにアジュバント活性について解析した.

プロバイオティクス細菌である *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) を供試菌株とし, 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% のグリシンを添加した培地で培養することにより, MV 産生が顕著に増加し, 非誘導条件に比較するとタンパク質量として約 70 倍, 脂質量として約 50 倍の収量が得られた. グリシン誘導 MV は粒径が拡大するとともにタンパク質構成が変化し, さらに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の IL-6, IL-12, TNF- α の産生を添加量依存的に誘導した. EcN MV について粘膜アジュバント活性を解析すると, オボアルブミンを抗原としてマウスに経鼻免疫した系において, コレラトキシン B や Poly (I:C) と同等以上の活性を示した. さらに, EcN MV を *Porphyromonas gingivalis* の MV とともにマウスに経鼻免疫した系においては, *P. gingivalis* MV の単独投与に比べ, 両者の複合投与では *P. gingivalis* 特異的抗体の産生が増加した.

以上から, グリシンはエンドトキシン活性を小さくしながら, サイトカイン誘導能やアジュバント活性を有する MV を顕著に誘導することができるため, 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.

Characterization of bacterial membrane vesicles induced by glycine and their adjuvant activity

○Hirayama S^{1,2}, Nakao R¹

¹Dept Bac I, Natl Inst Infect Dis, ²Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

All types of bacteria produce membrane vesicles (MVs). In this study, we found that glycine increased bacterial MV production, and analyzed the characteristics of glycine-induced MVs. A probiotic strain *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) was used, and a flagellum-deficient strain was constructed to prevent the contamination of flagella from the MV fraction. By culturing this strain in a medium supplemented 1.0% glycine, the MV production was significantly increased, and the yields of protein and lipid were 70- and 50-fold higher, respectively. Glycine-induced MVs showed an increase in particle size, a change in protein composition, and a decrease in endotoxin activity (1/8 per protein amount). On the other hand, EcN MVs induced the production of IL-6, IL-12, and TNF- α in macrophage-like cells with or without glycine induction. Analysis of the mucosal adjuvant activity of EcN MVs showed that it was as active as cholera toxin B and Poly (I:C) in intranasal immunization of mice with ovoalbumin as antigen. Furthermore, intranasal immunization of mice with EcN MVs and *Porphyromonas gingivalis* MVs resulted in increased production of *P. gingivalis*-specific antibodies compared to *P. gingivalis* MVs alone. From these results, glycine-induced MVs are expected to be applied to various fields.

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

ES 若手研究者のための英語による科学論文作成の TIPS (後援:エルゼビア・ジャパン)

○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のである。したがって、論文執筆作業は研究者にとって極めて重要な社会的な活動であると言える。論文の優劣を決めるのは、適切な研究目的の設定と効果的な研究方略の立案、そして実験結果であるが、論文の構成が論文の価値を大きく左右する。論文執筆にあたり、各セクション (Introduction, Materials & Methods, Results, Discussion) 間で内容の重複を避け、各セクション相互を有機的に関連づけることが、科学的な重要性をつかみやすい論文を作成するコツである。また、研究目的には理論的根拠 (rationale) が重要で、未解決の問題点の明示とその問題を解決する研究方略の立案が鍵を握る。良い論文を書くためには、論文を強く意識して研究を進めることが必要になる。

本講演では、若手研究者を対象に学術論文作成の基本を概説すると共に、科学的な重要性をつかみやすい論文を効率的に作成するコツを伝えたい。日本人がセンスのいい英語の科学論文を書くためには、英語的発想を知ることが重要であり、そのために必要なことは「コンテクスト (context)」を理解することである。さらに、正しく、明確に、簡潔に書くことが、読み手が理解しやすい執筆条件である。(1) 無生物主語・SVO・能動態を中心に、(2) 3つの時制と助動詞で動詞を強化し、(3) 著者の考えを正確に伝える適切な動詞を使うことなど、伝わる英語論文を書くための英語のコツを紹介する。

(参考文献) ジャン・プレゲンズ: ジャンさんの「英語の頭」をつくる本, 中山裕木子「英語論文ライティング教本」

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

TIPS to make a scientific paper using the effective English writing (in cooperation with Elsevier Japan)

○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. For the clarification of some concerns, researchers aim to propose a hypothesis and verify whether this hypothesis is right or not. To achieve this purpose, it is essential to create a logical hypothesis based on the findings obtained from the previous studies and how the researchers verify the hypothesis is a key step in their success. For writing an idiomatic English scientific paper, it is of paramount importance to understand English “context” and write the manuscript correctly, clearly, and concisely. The authors have to provide the research objectives based on the unsolved problem through “Perspective Frame” and the strategy to elucidate the raised problem for readers to easily understand the rationale of the study. In this lecture, I focus on how to make a scientific paper using the effective English writing.

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

MS1-1 選択的 IgA 欠損症と COVID-19 罹患リスク

○山本 哲郎

EPS ホールディングス株式会社 創研セ

免疫グロブリン A (IgA) は粘膜上および血中に存在し、特に、粘膜上に分泌される分泌型 IgA (sIgA) は COVID-19 など上気道感染症の予防因子として極めて重要な役割を担っている。先天性免疫疾患については出生 10 万人あたり 2, 3 人と極めてまれな疾患であるが、例外が選択的 IgA 欠損症 (血清中の IgG および IgM 濃度は正常値) で、その出現率には国・地域や人種・民族間で著しい差がある。例えば、調査されている 19 ケ国ではアラビア半島が 143 人に 1 人、スペインは 163 人に 1 人、ナイジェリアは 252 人に 1 人、イギリスは 875 人に 1 人、ブラジルは 965 人に 1 人、アメリカ合衆国は 223~1,000 人に 1 人と極めて高頻度であるのに対し、日本での出現率は 14,800~18,500 人に 1 人と最も低い。ちなみに中国は 2,600~5,300 人に 1 人である。すなわち、アラブ人、白人、およびアフリカ人において出現率が高く、日本など東アジアにおいては出現率が低く、最大で 100 倍もの差が見られる。選択的 IgA 欠損症の疾患としては、反復性の呼吸器感染症 (肺感染症や副鼻腔感染症を含む)、アレルギー疾患、自己免疫疾患、腸管疾患などがあげられる。なかでも反復性呼吸器感染症は、選択的 IgA 欠損症有病者にもっとも多くみられる疾患である。演者らの研究グループはこの点に注目して COVID-19 の 2020 年 6 月 1 日および 6 月 12 日の 2 時点における感染者数の公表データを用いて選択的 IgA 欠損症出現率との相関を解析した結果、いずれの時点でも COVID-19 感染率と選択的 IgA 欠損症出現率とのあいだに正の相関関係があることを認めた。これは IgA 欠損 (実際にはおそらく sIgA 欠損) によって COVID-19 罹患リスクが高められる可能性を支持する成績であり、新型コロナウイルスに対する抗 sIgA を効率的に誘導する新しい予防法の確立が今後極めて重要と思われる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Selective IgA deficiency and increased risk of COVID-19

○Yamamoto T

EPS Res Cent, EPS Holdings, Inc.

In human, immunoglobulin (Ig) A is the most abundant antibody isotype present at mucosal surfaces mostly as secretory IgA (sIgA) and the second most abundant in serum. Selective IgA deficiency is the most common primary immunodeficiency defined as decreased IgA level in serum, probably along with decreased sIgA level in mucosal secretions, in the presence of normal levels of other immunoglobulin isotypes. The worldwide incidence of selective IgA deficiency substantially varies depending on the ethnic background. Although most individuals with selective IgA deficiency are asymptomatic, some patients may present with recurrent infections of the respiratory and gastrointestinal tracts, allergic disorders and autoimmune manifestations. Among them, sinopulmonary infections are the most common findings. Our recent epidemiological analyses performed with COVID-19 information on the number of infected people and relevant deaths by nation reveal that the prevalence of COVID-19 per population, as well as the death rates, is positively correlated with the frequency of selective IgA deficiency. The results support the possibility that selective IgA deficiency may be responsible for increasing risk of COVID-19 in all nations so far analyzed. This encourages us to establish a novel strategy for coping with COVID-19 via efficient induction and/or production of sIgA directed against SARS-CoV-2.

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

MS1-2 新型コロナウイルスに対する唾液 IgA 交叉抗体の存在とその意義

○槻木 恵一^{1,2,3}

¹神歯大 院歯 環境病理, ²神歯大 院附属唾液化学研, ³日本唾液ケア研究会

口腔粘膜上皮は、新型コロナウイルスが結合するレセプター ACE2 と感染促進を行う TMPRSS2 の発現を認めることを昨年 8 月 20 日 (Int J Mol Sci. 2020 Aug 20;21 (17):6000.) にいち早く報告し、口腔は新型コロナウイルスの感染部位となることを示してきました。一方で、口腔には独自の感染防御システムが認められ、特に口腔の粘膜免疫の実行抗体である唾液中の IgA 抗体は、生体内に病原体を侵入させないように未然に働く予防効果があります。感染症は、病原体の感染力と感染防止システムのバランスが不均衡になると発症します。しかし、口腔における新型コロナウイルスの感染防止に関与する因子の研究は、非常に遅れていました。神奈川歯科大学附属病院に勤務する歯科医師および医師の方に、新型コロナウイルスに対する唾液を用いた PCR 検査と血液を用いた IgG および IgM 検査を行いました。この PCR 検査および IgM 検査に参加した全員が陰性でした。この研究対象者(24-65 歳, 男性: 101, 女性: 36)の方たちの唾液を採取し、ELISA を構築し新型コロナウイルスに対する交叉 IgA 抗体を調べました。その結果、新型コロナウイルスに対する交叉 IgA 抗体は、64 人 46.7% に認められました。さらに、24-49 歳と 50-65 歳の 2 群に分けて解析すると有意差があり、交叉 IgA 抗体は若い世代に多く高齢者に少ないことが明らかとなりました。以上の結果は、新型コロナウイルスの感染既往が無くても新型コロナウイルスに対する交叉 IgA 抗体が存在することを発見しました。本発見は、口腔の粘膜免疫の強化が新型コロナウイルスの感染防止に役立つ可能性を示しています。さらに唾液を用いた IgA 抗体の検査により、口腔からの感染リスクの評価法の開発も期待されます。

【利益相反】 公開するべき利益相反はありません。

Detection of cross-reactive IgA against SARS-CoV-2 spike 1 subunit in saliva

○Tsukinoki K^{1,2,3}

¹Dept Envir Pathol, Kanagawa Dent Univ, ²Saliva Sci Res Cent, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ³Japan Saliva Care Assoc

We collected saliva from dentists and doctors (24-65 years old, male: 101, female: 36) working at Kanagawa Dental University Hospital, constructed an ELISA, and examined crossed IgA antibodies against the SARS-CoV-2. As a result, crossed IgA antibody against the SARS-CoV-2 was found in 46.7% of 64 patients. Furthermore, when analyzed by dividing into two groups, 24-49 years old and 50-65 years old, there was a significant difference, and it was clarified that the crossed IgA antibody was more in the younger generation and less in the elderly. Based on the above results, we found that crossed IgA antibodies against the SARS-CoV-2 exist even if there is no history of infection with the SARS-CoV-2.

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

MS1-3 COVID-19 ワクチンの開発

○長谷川秀樹

感染症 インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究セ

SARS-CoV-2 の世界中への蔓延によりさまざまなプラットフォームによるワクチン開発が世界中で開始された。従来の感染症ワクチンは病原体を弱毒化した生ワクチン、病原体を不活化した不活化ワクチン、病原体の成分を用いたサブユニットワクチンが主なものであった。しかし世界中で行われたワクチン開発は従来の方法に加え既存のワクチンとしては耳慣れない RNA ワクチン、DNA ワクチン、組換えベクターワクチンという新しい技術によるワクチンが列挙されている。

我々はワクチンプラットフォームとしてバキュロウイルス発現系を用いた組換えタンパクによるサブユニットワクチン開発にとりかかった。対象ウイルスの取り扱いバイオセーフティーレベルにとられる事なく、ワクチン抗原を短期間で大量に生産できるメリットがあると考えた。またヒトパピローマウイルスワクチンや、米国での組換えインフルエンザ HA ワクチンとしてワクチン製造系としての実績がある。ウイルス表面の S タンパクは受容体結合部位を含むため、感染防御の為のワクチン抗原としては第一候補となった。

感染症のワクチンを考える時、疾患の病態を理解して適切な防御法を考えるのが大切である。インフルエンザワクチンではワクチンを接種しても罹患する人が毎年沢山いる。流行も毎年ある。それは感染の部位である上気道の粘膜がワクチンによって血中に誘導される抗体によって防御できないからである。新型コロナウイルスにおいても感染のターゲットが上気道の上皮、及び肺胞上皮である。通常のアプローチでは重症化を予防する事ができても流行を抑えるのが難しいかもしれない。速攻性が求められているワクチンに対応しつつ、いままでのインフルエンザでの経験を活かし最終的には感染を抑えられる、流行を抑えられる可能性の高い粘膜免疫を誘導するワクチンの開発を目指している。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Development of COVID-19 Vaccine

○Hideki Hasegawa

Cent Influenza and Respir Virus Res, Natl Inst Infect Dis

【Abstract】 The worldwide spread of SARS-CoV-2 has prompted the development of vaccines on various platforms around the world. We have started to develop subunit vaccines using recombinant proteins in the baculovirus expression system as a vaccine platform. The S protein on the surface of the virus contains a receptor binding site, which made it the first candidate for a vaccine antigen to protect against infection.

When considering a vaccine for an infectious disease, it is important to understand the pathology of the disease and consider the appropriate protection method. In the case of influenza vaccines, there are many people who contract the disease every year even after being vaccinated. This is because the mucous membrane of the upper respiratory tract, the site of infection, cannot be protected by the antibodies induced in the blood by the vaccine. In the new coronavirus, the target of infection is the epithelium of the upper respiratory tract and the alveolar epithelium. The usual approach may prevent severe disease, but it may be difficult to control the epidemic. We are aiming to develop a vaccine that induces mucosal immunity, which is highly likely to suppress infection and epidemics, by utilizing our experience with influenza while responding to the need for a fast-acting vaccine.

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

MS2-1 臨床解剖に基づくインプラント治療の外科的リスクマネジメント

○関根 秀志

東歯大 クラウン補綴

オッセオインテグレーションに支えられる口腔インプラント治療が本邦にもたらされておおよそ40年を経過し、咬合再構成の一手段として定着して久しい。その間、歯科医療におけるデジタル化の波及はインプラント治療において著しい。特に、CTデータを利用した画像診断、インプラント体埋入シミュレーション、そして計画通りの外科手術を行うためのサージカルガイドの作製とガイドドサージェリーの実施が、容易に行える環境が整ってきている。

一方、インプラント治療に関わる外科的なトラブルについて途切れることなく報告されている。インプラント手術に関する重篤な医療トラブルに関する継続的なアンケート調査では、トラブルの発生件数は、CT画像、ガイドドサージェリーの普及とインプラント体の改良により減少していると報告されている。しかしながら、トラブルの発生項目としては、下歯槽神経、オトガイ神経舌神経などの神経損傷関連と、上顎臼歯部における上顎洞関連が全体の6割を占める傾向に変わりがなく指摘されている。重ねて、神経損傷については症状の改善傾向を示したものは半数にとどまり、上顎洞関連トラブルの転帰についても追加の手術の必要性や治療期間の長期化などの問題点が挙げられており、これらのトラブルを回避するための診断能力、外科手技能力の向上への教育活動などの継続した取り組みが求められている。

そこで、この度はトラブルの回避に有効と考えられる神経損傷と上顎洞関連の術前画像診断に応用が可能と考えられる解剖学的調査を行った内容をまとめて報告し、トラブル発生の抑制の一助としたい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Surgical risk management in implant treatment based on clinical anatomy

○Sekine H

Dept Crown Bridge Prosthodont, Tokyo Dent Coll

Currently, implant treatment is established as one of the occlusal reconstruction methods. In addition, the widespread use of digitalization in dental treatment is remarkable in oral implant treatment. In particular, diagnostic imaging using CT data, implant simulation, creation of surgical guides, and guided surgery can be performed easily.

Meanwhile, surgical problems related to implant treatment continue to be reported. Continuing questionnaire surveys on serious medical problems related to implant surgery have reported that the use of CT images and guided surgery and improvements in the implant body have reduced the number of problems. However, it has been pointed out that the relationship between nerve damage such as the inferior alveolar nerve, mental nerve, and lingual nerve and the maxillary sinus accounts for 60% of the total incidence of trouble. Continuous efforts such as educational activities to improve diagnostic ability and surgical treatment ability to avoid these troubles are required. Therefore, I would like to report the contents of an anatomical survey that can be applied to preoperative diagnostic imaging of nerve damage and maxillary sinus.

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

MS2-2 下顎骨周囲における注意すべき血管走行のバリエーション

○阿部 伸一

東歯大 解剖

歯科インプラント治療は、各臨床分野で新しいテクニックの開発が試みられており、その技術は日進月歩の向上をみせている。インプラントを安全確実に行うためには、これまで以上に詳細な解剖学的知識が要求される。すなわち、対象となる部位の骨の構造、付着する筋、周囲に分布する脈管・神経の走行状態などを十分に理解することが偶発症の防止につながると考える。インプラント埋入手術に伴う重篤な偶発症は大きく神経損傷、血管損傷、粘膜損傷に分類され、それぞれ注意すべき解剖学的事項との関連が重要となるが、今回は下顎舌下部粘膜下の局所解剖に絞って議論したい。

顎骨は歯の喪失に伴い、形態が大きく変化することが知られている。顎骨に付着する筋、顎骨周囲に走行する脈管、神経についても、歯を喪失した後の顎骨の形態に関連付けて考えていかなければならない。特に下顎骨内面に位置する舌下部の粘膜直下には、舌下隙という広い空間があり、この中には舌下腺・顎下腺管（ワルトン管）・舌神経・舌下動静脈など重要な構造物を容れる。これらの構造物が無歯顎となり大きく形態変化した下顎骨の内面で、どのような位置関係で存在するかについてイメージできることは重要である。特に術中の血管損傷に関する報告のある血管走行に関しては、舌下動脈並びにオトガイ動脈が様々なバリエーションをもって分布していることを我々の講座では報告してきた。そしてこれら血管の中には下顎骨小白歯部内面付近から、骨に沿うように走行し骨内に進入している標本も観察された。以上の我々の観察結果から、下顎骨前歯部から小白歯部内面へのインプラント穿孔により血管損傷を惹起しやすい血管走行をもつ場合があることを本シンポジウムでは議論したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Vascular variations around the mandible that require attention

○Abe S

Dept Anat, Tokyo Dent Coll

In dental implant treatment, new techniques are being developed in each clinical field, and the techniques are improving day by day. More detailed anatomical knowledge is required to safely and reliably implant. It is known that the morphology of the jaw bone changes significantly with loss of teeth. The muscles attached to the jaw bone and the vessels and nerves surrounding the jaw bone must also be considered in relation to the morphology of the jaw bone after loss of teeth. The sublingual space, a large space directly under the mucosa of the sublingual region, is located on the inner surface of the mandible and contains important structures such as the sublingual gland, submandibular duct (Wharton's duct), lingual nerve, and sublingual arteries and veins. It is important to be able to visualize where these structures are located on the inner surface of the mandible which has undergone significant morphological changes due to edentulism. Based on our observations above, we would like to discuss at this symposium that implant perforation from the anterior teeth of the mandible to the inner surface of the premolars may cause vascular running that tends to cause vascular damage.

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

MS2-3 インプラント解剖学のオーラルバイオロジー

○松尾 雅斗

神歯大 口腔解剖

歯科臨床ではCTスキャンや口腔内スキャナーを用いたガイドドサージェリーが診断・治療に用い始められている。それに伴い診療におけるリスクマネジメントとして臨床解剖学の重要性も増してきた。しかし、インプラント患者は無歯顎や多数歯欠損など病態ではなくかつ常態でもない複雑で特異な形態学的バリエーションを有する。このようなアナログの集大成である人間の構造をデジタル化することは歯科診療における必然であるとも考えられる。我々は今までビーグル犬を用いた歯周組織再生/インプラントモデルを中心に実験を行ってきた。これは細胞を用いた *in vitro* 実験や齧歯類の実験と異なりヒト症例に用いられるものと同じの材料/器具を用いることができるため歯科臨床へのフィードバック効果が非常に高いと考えたのがその理由である。本演題ではその結果に加えてインプラントが埋入された解剖実習献体症例を走査型電子顕微鏡 (SEM) 下においてインプラント周囲組織を観察し比較検討を行った (神奈川歯科大学研究倫理番号 367 号) ので供覧したい。

その結果、高齢者であっても下顎骨ではインプラント周囲には明確な周囲骨が形成され、そこから水平に移行する骨梁が観察され咀嚼が機能している事が示された。また、これらの像は動物実験による所見と極めて近似していた。上顎骨では欠損部に上顎洞挙上術によるインプラント埋入が行われていた。成功例と思われる手術でも内面から SEM 観察すると根尖部が粘膜内に収まっているものと洞粘膜から突出している例がみられた。

本演題では臨床解剖学の立場からインプラントのオーラルバイオロジーについてビジュアルにお話し出来ればと考えている。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Oral biology of implant anatomy

○Matsuo M

Dept Oral Anat, Kanagawa Dent Univ

Guided surgery is beginning to be used for diagnosis and treatment in implant dentistry. Therefore, clinical anatomy has become important for the management of surgical risks. Digitization of the human structure, which is the culmination of analogue materials, is considered to be inevitable for dental practice.

However, implant patients exhibit many physical variations, such as edentulous jaws and multiple missing teeth. In this study, the peri-implant tissues were observed and compared under a scanning electron microscope (SEM) in a case of a cadaver cases and animal experiment. Thick peri-implant bone and trabeculae were created around the implant body. These images were very similar to the animal studies. Implant was inserted into the maxillary sinus in the maxilla. In some cases apex of implant body was behind the mucosa, while in others it protruded from the sinus mucosa. In this presentation, I would like to discuss about the oral biology of implants from the viewpoint of clinical anatomy.

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

MS2-4 歯科インプラント治療におけるガイドドサージェリーの有用性

○木津 康博^{1,2,3}

¹木津歯科 オーラル&マキシロフェイシャルケアクリニック横浜, ²東歯大 口腔腫瘍外科,

³東歯大 インプラント

歯科インプラント治療は、欠損歯に対する予知性の高い補綴治療法の一つであり、大変普及している。一方、インプラント治療の普及に伴い、併発症も多く報告されている。手術時の併発症としては、血管・神経の損傷、上顎洞内への穿孔、下顎舌側皮質骨の穿孔など解剖学的な問題が挙げられる。また、術後にはインプラント埋入位置の不良によるインプラント周囲炎や補綴装置の不具合なども生じることがある。これらは口腔外科技術の問題のほかにインプラント手術計画や解剖学の知識に問題があることも多く、術前の検査、診断と治療計画の重要性を再認識しなければならない。

近年、コンピュータを用いたシミュレーションによるガイドドサージェリーが臨床に登場した。本法はCT画像と想定した補綴装置を用いて治療計画を立案することができるため、適正な位置へのインプラント埋入が可能となり、術中および術後の併発症発現を予防することができる。また、ガイドドサージェリーには静的と動的ガイドドサージェリーがある。2000年過ぎに登場した静的ガイドドサージェリーは、CT画像上のシミュレーションデータから作製したサージカルテンプレートを用いた手術法である。術前のシミュレーションを再現できる一方で、サージカルテンプレートのズレなどに適切に対処することが困難であり、さらには顎骨の状態に応じて術中に治療方針を変更することも難しい欠点があった。一方、最近臨床に登場した動的ガイドドサージェリーは、術中にブルーライトと2つのカメラを用いることで、患者とハンドピースの位置を把握し、ドリリングとインプラント埋入位置をリアルタイムで3Dナビゲーションする方法である。

今回、併発症を回避する目的で術前に3D検査と治療シミュレーションを行い、静的または動的ガイドドサージェリーを用いて歯科インプラント治療を行うこと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。

Clinical usefulness of guided surgery in dental implant treatment

○Kizu Y^{1,2,3}

¹Oral & Maxillofac Care Clinic Yokohama, Kizu Dent Clin, ²Dept Oral Oncol Surg, Tokyo Dent Coll, ³Dept Oral Implantol, Tokyo Dent Coll

Dental implant treatment is one of the highly predictable prosthetic treatment methods for missing teeth, and has become very popular. On the other hand, with the spread of implant treatment, many complications have been reported. Complications during surgery include anatomical problems such as damage to blood vessels and nerves, perforation into the maxillary sinus, and perforation of the lingual cortical bone of the mandible. In addition to problems with oral surgery techniques, these often have problems with implant surgery planning and anatomical knowledge, and the importance of preoperative examination, diagnosis and treatment planning must be reaffirmed.

In recent years, guided surgery by computer simulation has appeared in clinical practice. Since this method can formulate a treatment plan using a prosthetic device that is assumed to be a CT image, implant placement at an appropriate position is possible, and the onset of complications during and after surgery can be prevented. There are two types of guided surgery: static and dynamic guided surgery.

This time, I will explain the importance of performing preoperative 3D examination and treatment simulation for the purpose of avoiding complications, and performing dental implant treatment using static or dynamic guided surgery.

Conflict of Interest: The author declares that there are no conflicts of interest.

MS3-1 ヒト多能性幹細胞由来軟骨内骨化組織の作製

○大庭 伸介

長大 生命医科 細胞生物

多能性幹細胞の分化システムは、器官発生機構の理解、疾患モデリング、治療用薬剤の同定、幹細胞を用いた治療法の開発に有用である。分化誘導剤の選定においては、器官発生を制御するシグナル経路への理解が必須となる。我々はヘッジホッグシグナルによる骨格系細胞の運命決定機構 (*Development*, 2008; *Dev Cell*, 2008; *J Biol Chem*, 2012; *J Biol Chem*, 2013) や Wnt/ β -catenin 経路が多能性幹細胞の多能性と分化を制御する際の遺伝子制御ネットワークを明らかにしてきた (*Stem Cells*, 2013)。これらの知見に基づき、マウス及びヒト多能性幹細胞から骨格系細胞を誘導するいくつかの手法を開発している (*Stem Cell Reports*, 2014; *Sci Adv*, 2017; *Regen Ther*, 2020)。一連の手法は、①多能性幹細胞の維持、②中胚葉・骨格系前駆細胞の誘導、③前駆細胞集団の骨格系細胞への分化、という3つのステップから構成される。①および②のステップでは、「組成が不明なものを用いない培養条件 (defined な培養条件)」において、発生学的に重要なシグナル経路を低分子化合物により調節している。このようにして誘導されたヒト多能性幹細胞由来前駆細胞を適切な条件下に置くことで、発生過程に類似した軟骨内骨化組織が形成されることを組織学的・分子生物学的手法により確認している。さらに最近では、シングルセル解析により、ヒト多能性幹細胞由来軟骨内骨化組織における細胞系譜や遺伝子制御ネットワークの一端を明らかにしつつある。一連の手法は、ヒト骨発生機構とその異常による疾患発症のメカニズムの理解や治療法開発への新たな研究プラットフォームとなることが期待される。

【利益相反】 筆者は利益相反がないことを宣言する。

Generation of endochondral bone tissues using human pluripotent stem cells

○Ohba S

Dept Cell Biol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Pluripotent stem cell (PSC)-based differentiation systems are helpful for the understanding of organogenesis, disease modeling, identification of therapeutic drugs, and stem cell-based therapies. We need a deeper understanding of signaling pathways underlying organogenesis in order to choose suitable inducers for the systems. From this point of view, we studied Hedgehog signaling-mediated cell fate specification of skeletal cells and Wnt/ β -catenin signaling-mediated gene regulatory networks underlying pluripotency and differentiation in PSCs. Based on these findings, we developed a couple of protocols for directing mouse and human PSCs toward skeletal cells. These protocols consist of the following three steps: (1) maintenance of PSCs, (2) induction of mesoderm and skeletal progenitors, and (3) differentiation of the progenitors into skeletal cells. In the first and second steps, developmentally crucial signaling pathways are modulated by small compounds under defined conditions. We have confirmed that the PSC-derived skeletal cells give rise to endochondral bone-like tissues under appropriate conditions. We are currently studying cell lineages and gene regulatory networks by taking advantage of single-cell analyses in the human PSC-derived endochondral bone-like tissues. Our approaches will lead to new platforms for the understanding of human ossification processes and skeletal diseases as well as the development of therapeutic strategies.

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

MS3-2 ヒト臍帯由来間葉系幹細胞を用いた顎裂再建の可能性

○須田 直人, 豊田亜希子

明海大 歯 矯正

唇顎口蓋裂児の顎裂は、口腔の形態と機能の異常の原因となる。断裂した顎堤が残存すると、歯の萌出・位置の異常や歯列狭窄を伴う歯列不正、さらには矯正歯科治療に制約を生じる。そのため、早期の顎裂閉鎖により機能回復と形態改善を図ることが望ましい。

臍帯は、採取にあたりドナーへの身体的負担がなく、採取された細胞の増殖能が高いことからバイオリソースとして優れている。これまで臍帯では、臍帯血を利用して組織再生が行われてきたが、Wharton's Jelly を含む外層に間葉系幹細胞が存在することが報告された。そこで、我々はヒト臍帯由来間葉系幹細胞 (hUCMSCs) に注目し、その骨組織形成能を検討した。

ヒト臍帯から酵素法により細胞を得た後、CD146 陽性細胞を磁気分離法により分離した (UC-MACS)。UC-MACS は間葉系幹細胞マーカーに陽性で、未分化維持関連遺伝子を発現し多分化能を有していた。ハイドロキシアパタイトとコラーゲンの複合体から成る担体に UC-MACS を播種し、ラット顎裂モデルへ移植した。マイクロ CT および組織染色により骨形成の評価を行ったところ、担体単独に比べて UC-MACS を加えた移植は顎裂間の骨架橋を増加させた。また骨架橋周囲にはオステオポンチン陽性の骨芽細胞様細胞が集積し、ヒト特異的抗体陽性の細胞も観察された。

hUCMSCs は免疫特権を持つことが知られている。以上の点から唇顎口蓋裂児の顎裂再建にあたり、hUCMSCs を用いることは効果的な再生医療技術と期待できる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Future perspective for regeneration of alveolar cleft using human umbilical cord derived mesenchymal stem cells

○Suda N, Toyota A

Div Orthod, Meikai Univ Sch Dent

Patients with cleft lip and palate have functional and esthetic problems. Alveolar cleft causes disorders in tooth eruption and occlusion, and the early correction is known as a desirable treatment protocol. Umbilical cord blood cells have been utilized in regenerative medicine. Recently, it is reported that mesenchymal stem cells are included in umbilical cords.

Thus, we took advantage using human umbilical cord mesenchymal stem cells (hUCMSCs) to regenerate alveolar clefts. CD146-positive cells (UC-MACS) were enriched from the isolated umbilical cord derived cells by magnetic-activated cell sorting. UC-MACS were positive for mesenchymal stem cell markers and pluripotent. UC-MACS could induce bone bridge formation between the experimental alveolar cleft model when implanted with carriers including hydroxyapatite and collagen. Osteopontin-positive osteoblasts were seen around newly formed bone and the human derived cells were accumulated.

It is known that hUCMSCs are immune privileged. All these findings indicate that hUCMSCs have bone inducing potency and are reliable bioresource for alveolar bone regeneration.

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

MS3-3 ヒト歯槽骨由来未分化骨芽細胞および3次元ポリ乳酸足場材を用いた新規骨再生医療技術の開発

○齋藤 正寛¹, 半田 慶介²

¹東北大院歯 保存, ²神歯大 歯 口腔生化

本格的な超高齢社会を迎えた世界においてあらゆる分野で造骨再生医療等製品が必要とされてきており、多くの製品が市場に出ている。これまで造骨再生医療には骨髄あるいは脂肪組織由来の間葉系幹細胞が用いられてきた。これらの多くは足場の間葉系幹細胞を定着させ骨芽細胞分化誘導を行い移植して造骨を期待する技術開発である。また間葉系細胞は免疫反応を調節する抗炎症効果による創傷治癒の促進効果があるため、移植手術における侵襲と骨欠損部位における抗炎症効果で骨再生を導くことも報告されている。このように間葉系幹細胞の有用性は示されているもの、この技術では長きに渡り待ち望まれている垂直方向の造骨、すなわち大規模な骨欠損における再生効果は限定的である。造骨には間葉系幹細胞から骨芽細胞への分化誘導が必要であるが、それが不十分なことが示されており、効率的な分化誘導法、骨芽細胞密度をあげる手法の開発が望まれる。

研究代表者は顎骨から独自の酵素消化法にて骨再生医療に特化したヒト顎骨由来未分化骨芽細胞様細胞 (HAOB) の分離培養技術を世界に先駆けて確立してきた。HAOB はあらゆる年代の患者層から採取することが可能な造骨細胞であり、また産総研と共同で体内にて分解・代謝されるポリ乳酸を主成分とし、HAOB の増殖と分化に最適となるよう硬さ等を調製した生体吸収性移植材料 (3次元ポリ乳酸足場材) を開発してきた。水平性骨欠損を模倣した動物モデルを作製する目的で、マウスの上顎第一大臼歯を抜歯し、同部位の骨を切削して顎骨欠損モデルを作製し、マウス頭蓋冠より HAOB と同じ手法で未分化骨芽細胞 (MCOB) を分離培養し MCOB-3次元ポリ乳酸足場材の同種移植実験による骨再生能力を検証した。その結果、3次元ポリ乳酸足場材単独移植群と比較して MCOB-3次元ポリ乳酸足場材は顎骨欠損部位で良好な骨造性が確認され、MCOB を使用する優位性を証明出来た。

本シンポジウムでは未分化骨芽細胞様細胞-3次元ポリ乳酸足場材を用いた骨再生医療等製品の開発に関して議論する。

【利益相反】 著者は利益相反のない事を宣言します。

Development of bone regenerative medicine technology using human alveolar bone derived immature osteoblast like cell and three-dimensional poly-lactic acid scaffold

○Saito M¹, Handa K²

¹Divi Oper Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ²Dept Oral Biochem, Kanagawa Dent Coll

Mesenchymal stem cells (MSCs) has an rapid healing of bone defect by bone forming ability and anti-inflammatory effect. Although effectiveness of MSCs have been shown, these cells could not be achieved regeneration of large bone defect. To overcome this problem, novel bone regeneration technology must be developed using cells possessing high bone forming ability and scaffold that can provide space for vertical bone formation.

To approach this problem, we have previously developed a graft material combining polylactic acid fiber that increase the strength of the scaffold material (3D PLLA) and alveolar bone derived immature osteoblast (HAOB) which has high bone regeneration ability for regeneration of large bone defect. Recently transplantation of mice calvaria derived immature osteoblast like cells (MCOB) which can isolate by identical protocol of HAOB mixed with 3D PLLA was able to regenerate mice alveolar bone defect model compared with those of 3D PLLA alone. In the present symposium, we are going to discuss HAOB-3D PLLA as a novel bone regeneration product for patient with large bone defect.

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

JKS-1 Hypothalamic neuronal cilia regulate energy homeostasis

○Ki Woo Kim^{1,2}, Ji Su Sun^{1,2,#}, Dong Joo Yang^{1,3,#}, Ann W. Kinyua³, Seul Gi Yoon⁵, Je Kyung Seong^{4,5}, Juwon Kim³, Seok Jun Moon^{1,2}, Dong Min Shin¹, Yun-Hee Choi¹

¹Dept Oral Biol, Yonsei Univ Coll Dent, Seoul, Korea, ²Dept Appl Biol Sci, BK21 Plus, Yonsei Univ Coll Dent, Seoul, Korea, ³Dept Lab Med Global Med Sci, Yonsei Univ Wonju Coll Med, Wonju, Korea, ⁴Lab Deve Biol and Genomics, The Res Inst for Veteri Sci, Coll of Veteri Med, Seoul Natl Univ, Seoul, Korea, ⁵Korea Mouse Phenotyping Center, Seoul, Korea, [#]These authors contributed equally

The hypothalamus is a crucial neuronal compartment in the regulation of energy homeostasis. Huge progression has been made to understand the mechanism by which the energy balance is modulated through the hypothalamus. Molecular functions and related neuronal networks were extensively revealed. Together with molecular-level mechanisms, recently, an organelle called primary cilium has received attention for its role in controlling energy homeostasis in the hypothalamus. In this presentation, I will briefly summarize molecular and related-neuronal networks involved in the regulation of energy homeostasis. Furthermore, I will discuss homeostatic roles of primary cilia, along with our recent findings.

Conflict of Interest: None

JKS-2 光受容体 Opsin3 による褐色脂肪の光感受性

○佐藤 真理

北大 院歯 口腔分子生化

G-protein-coupled receptor (GPCR)のひとつである Opsin3 (OPN3) は光受容体として知られている。OPN3 は脂肪組織で多く発現しているが、OPN3 が脂肪組織に果たす役割は未だ不明である。興味深いことに OPN3 ノックアウトマウスは高脂肪食飼育下で易肥満性を示し、インスリン抵抗性を生じる。さらに、エピネフリン刺激による熱産生が低下していることから褐色脂肪の機能異常が示唆された。OPN3 を介した光刺激の褐色脂肪代謝への関与を調べるために、OPN3 ノックアウト褐色脂肪細胞を樹立し、光照射実験および代謝機能測定実験を行った。野生型褐色脂肪細胞では、光照射による糖取り込みの増加とミトコンドリアでのエネルギー産生の増加が見られたが、OPN3 ノックアウト褐色脂肪細胞ではこれらの効果は見られなかった。加えて、G-protein 結合領域を変異させた褐色脂肪細胞でも光刺激による効果が消失した。これらのことから、OPN3 を介した光刺激は GPCR シグナルを介して褐色脂肪細胞の代謝を制御することが分かった。この OPN3 を介した光刺激が喚起する分子機構を明らかにするために、RNA-sequencing 解析を行い、代謝シグナルに関与する 140 遺伝子を同定した。次に、OPN3 を介した光刺激による褐色脂肪代謝への影響を生体レベルで調べるため、in vivo illumination system を用いてマウス褐色脂肪への光刺激を行い代謝機能測定を行った。野生型マウスでは光刺激による熱産生および酸素消費量が増大したが、この効果は OPN3 ノックアウトマウスでは見られなかった。このことから、OPN3 を介した光刺激は褐色脂肪組織の代謝機能を増強することで全身の代謝を正に制御してい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。

Light sensitivity of brown adipose tissue via photoreceptor Opsin3

○Sato M

Dept Oral Biochem Mol Biol, Hokkaido Univ, Grad Sch Dent Med

Opsin3 (Opn3) is a transmembrane heptahelical G-protein-coupled receptor (GPCR) with the potential to produce a non-visual photoreceptive effect. Although Opn3 mRNA is highly expressed in adipose tissue, the photosensitive functions and the metabolic effects in adipose tissue are entirely unknown. Opn3-knockout (Opn3-KO) mice showed trends toward diet-induced obesity and insulin-resistance. At the cellular level, light stimulation upregulated glucose uptake and mitochondrial respiration in wild-type (WT) brown adipocytes but not in Opn3-KO cells. Experiments with brown adipocytes that carried a mutation in the G-protein-binding region of Opn3 demonstrated that Opn3 regulates cellular metabolism through a GPCR-mediated signaling pathway. Furthermore, RNA sequencing analysis identified 140 Opn3-mediated light-sensitive genes involved in metabolic signaling pathways such as fatty-acid oxidation, amino-acid metabolism and mitochondrial respiration. To address whether light exposure directly activates physiological brown adipose tissue (BAT) function, we performed direct exposure of BAT to light in living mice. Light illumination significantly enhanced heat production and oxygen consumption in WT mice but not in Opn3-KO mice. This study reveals cell-autonomous light-sensing mechanism in brown adipocytes via Opn3-GPCR signaling that can regulate fuel and energy metabolism.

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

JKS-3 脂肪細胞表面受容体 GPRC6 による脂質代謝制御

○溝上 顕子¹, 大谷 崇仁², 兼松 隆³, 自見英治郎^{1,4}, 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 口腔機能分子, ⁴九大 院歯 口腔細胞工学, 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 β 細胞をはじめ、精巣、消化管、脂肪組織、脳など全身に広く分布する。リガンドとしては、骨基質タンパク質であるオステオカルシン (GluOC) のほか、アミノ酸、細胞外 Ca^{2+} 、テストステロンなど、多様な分子が同定されている。全身で GPRC6A を欠損するマウスは食餌誘発性肥満とそれに伴う糖・脂質代謝障害を来す。このことから、GPRC6A を介したシグナル伝達はエネルギー代謝に関与することが強く示唆されている。我々はこれまでに、GPRC6A のリガンドである GluOC を長期にわたって投与したマウスでは脂肪細胞が顕著に小型化し、糖・脂質代謝が改善することを報告している。このことから、脂肪細胞における GPRC6A シグナルが全身の糖・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、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 マウスを高脂肪高ショ糖食で飼育すると、著しい脂肪細胞の肥大とそれに伴う脂肪組織炎症、肝臓への異所性脂肪蓄積が見られ、その結果、インスリン抵抗性、耐糖能の悪化が認められた。adG6AKO の脂肪組織では、脂肪分解に関わる酵素群の転写を制御する FoxO1 ならびにその下流の脂肪解酵素群の発現量が低下しており、GPRC6A を欠損した脂肪細胞の肥大は、脂肪の分解が低下したことに起因することが明らかになった。以上のことから、脂肪における GPRC6A シグナルは脂肪の分解と蓄積のバランスを制御することで全身の脂肪量を調整している可能性が示唆された。

【利益相反】なし

Role of G-protein coupled receptor GPRC6A in regulating adipose tissue metabolism

○Mizokami A¹, Otani T², Kanematsu T³, Jimi E^{1,4}, Hirata M⁵

¹OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll, ³Sect Aging Sci Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ⁴Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ⁵Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll

GPRC6A, a member of family C of G protein-coupled receptors, has been proposed to be a master regulator of metabolic processes. It has been reported that global deletion of GPRC6A increases susceptibility to develop diet-induced obesity and metabolic related disorders. However, due to its broad tissue distribution and its ability to respond to a variety of hormonal and nutritional signals, the underlying cellular and molecular mechanisms of the metabolic disorders are still unclear. We previously reported that long-term oral administration of osteocalcin, one of the GPRC6A ligands, markedly reduced adipocyte size and improved glucose tolerance in wild type mice. Thus, we generated adipocyte-specific GPRC6A knockout mice (adG6AKO) and found that these animals manifested increased adipose tissue weight, adipocyte hypertrophy, and adipose tissue inflammation under obesogenic environment. These effects were associated with reduced lipolytic activity due to down-regulation of lipolytic enzymes in adipose tissue of adG6AKO mice. 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: none

JKS-4 老化と加齢依存性疾患における脳グルコース代謝の役割

○安藤香奈絵^{1,2}, 岡 未来子¹, 阿部 早織²

¹東京都立大 院理 生命科学, ²東京都立大 理 生命科学

加齢に伴い脳の機能は低下し、アルツハイマー病など神経変性疾患のリスクは増加する。脳はエネルギー需要の高い器官であり、老化に伴い脳への糖の供給や糖代謝は低下する。一方、食餌制限や糖代謝の抑制は寿命を伸ばすことが知られており、脳の老化における糖代謝の役割には未だ不明な点が多い。

私たちは、ショウジョウバエを用いて、脳神経細胞での ATP 欠乏が個体の老化に関わることを見出した。脳の神経細胞では、加齢に伴って ATP 量が減少していた。しかし、神経細胞内へのグルコース取り込みを促進すると、加齢による ATP 減少と運動機能低下が抑えられ、寿命も延伸した。神経細胞へのグルコース取り込みの増加と食餌制限を組み合わせると、より寿命が延びた。脳の糖代謝の老化における役割を、神経変性疾患への関わりも含めて議論したい。

【利益相反】 該当しない

Brain glucose metabolism in aging and age-related disorders

○Ando K^{1,2}, Oka M¹, Abe S²

¹Dept Biol Sci Grad Sch Sci, Tokyo Metropolitan Univ, ²Dept Biol Sci Sch Sci, Tokyo Metropolitan Univ

Aging is associated with progressive declines in brain integrity and functions alongside increases in vulnerability and the risk of developing neurological diseases. Energy metabolism plays a central role in organismal aging, but there is conflicting evidence about the roles of neuronal glucose metabolism in aging and lifespan. The brain requires a large amount of energy, and aging is associated with declines in glucose availability and energy production in the brain. This implies that strategies aimed at increasing glucose metabolism in neurons may protect against organismal aging. By contrast, dietary restriction (DR), which causes circulating glucose concentrations to fall, has been demonstrated to have anti-aging effects. Thus, the pro-aging effects of reductions in brain glucose metabolism and the anti-aging effects of reducing circulating glucose are contradictory.

To solve this discrepancy, we analyzed metabolic changes in the brain neurons of *Drosophila* during aging. We found decreased ATP concentration in the neurons of aged flies, which was correlated with decreased glucose content, expression of glucose transporter and glycolytic enzymes and mitochondrial quality. Increasing glucose uptake maintained ATP levels, suppressed age-dependent locomotor deficits and extended the life span. Increasing neuronal glucose uptake during dietary restriction resulted in the most extended lifespans, suggesting an additive effect of enhancing glucose availability during a bioenergetic challenge on aging. Furthermore, enhancement of glucose uptake in neurons protects against neurodegeneration in a tauopathy model fly. These results suggest that reduction in neuronal glucose metabolism underlies aging and neuronal vulnerability under disease conditions.

Conflict of Interest: none

AS-1 口腔内細菌叢破綻による糖・脂質代謝への影響

○片桐さやか

医科歯科大 院医歯 歯周病

口腔内の細菌叢は多様な細菌によって構成されている。口腔内の細菌叢のバランスの変化が、齲蝕や歯周病などの口腔内感染症を引き起こすだけでなく、腸内細菌叢を変化させることが明らかになってきた。さらに、腸内細菌叢の変容を通じて免疫能や全身の臓器の機能に影響を与えることが示唆されている。ここでは、口腔内細菌の概略と腸内細菌叢との関わり、口腔内細菌が及ぼす全身への影響について説明する。

口腔と腸は消化器系を構成し、1本の管として繋がっている。そのため、われわれは常に口腔内細菌を唾液や食べ物とともに飲み込んでいる。たった1gの口腔内プラーク（バイオフィーム）には 10^{11} 個以上の数の細菌が含まれていることから、飲み込んでいる細菌の数は膨大だと言える。それらの口腔内細菌は腸まで到達し、腸内細菌叢に影響を与えていることが既に知られている。歯周病患者と健常者の腸内細菌叢を比較した研究では、歯周病患者では腸内細菌叢の細菌種の多様性が低いことが認められている。われわれの行ったマウスモデルの研究においても、歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* を投与するとマウスの腸内細菌叢が変化し、耐糖能異常、インスリン抵抗が引き起こされた。ここでは、口腔内細菌と腸内細菌の関わりに注目し、特に肝臓、筋肉、脂肪組織など、メタボリックシンドロームに関与する臓器についての研究結果を紹介する。口腔内細菌と腸内細菌叢に着目した研究を通じて、口腔内細菌と代謝機能や免疫能との関わりが解明され、口腔内の環境の改善が健康寿命の延伸へとつながることのエビデンスの構築が期待される。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

The effect of oral dysbiosis on glucose/lipid metabolism

○Katagiri S

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

Periodontitis is a chronic infectious disease and causes endotoxemia. In addition, periodontitis has a possibility to change the gut microbiome. Many studies have demonstrated that systemic health depends on balanced microbial communities. In this session, I explain how periodontitis affects metabolic syndrome, including insulin resistance and obesity. We have focused on the increase of ectopic fat accumulation in the liver and skeletal muscles with alteration of gut microbiome. Gene expression in adipose tissues, an important organ for metabolism, was modified by endotoxemia with *Porphyromonas gingivalis*. We will establish the evidence that improving oral dysbiosis can prevent dysfunctions of glucose/lipid metabolisms.

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

AS-2 次世代への運動情報伝達器官としての胎盤機能の新定義

○楠山 譲二

東北大 学際科学フロンティア研

これまでのヒト疫学研究および動物モデル研究の成果によって、母親の肥満及び2型糖尿病は、子供が健康的な生活習慣を送っているにも関わらず、将来の代謝機能障害の発症を招く危険因子であると認識されている。母親から子への肥満・糖尿病の負の連鎖を食い止めるためには、世代間の発症リスク伝播を解消する実践的手段を講じる必要がある。近年、我々を含めた複数のげっ歯類モデル研究によって、妊娠中の運動は母親の肥満による仔の耐糖能機能の低下を改善できることが報告されてきたが、そのメカニズムは不明であった。我々は妊娠運動効果の次世代伝播が、新規の胎盤由来生理活性物質（プラセントカイン）である superoxide dismutase 3 (SOD3)によって担われていることを解明した。妊娠期運動で胎盤から分泌される SOD3 は、胎生 13.5 日のマウス胎仔肝臓において AMPK-IDH- α ケトグルタル酸-TET シグナルを活性化し、プロモーターの DNA 脱メチル化を誘導することで、肝臓における糖代謝関連遺伝子の発現を増加させていた。また運動による胎盤でのビタミン D 受容体発現と食餌からのビタミン D 摂取が、運動効果の次世代伝播には必須であった。更に SOD3 は、身体活動が活発なヒト妊婦の血清と胎盤で有意に増加していた。このように胎盤由来 SOD3 と胎仔肝臓との臓器連関の発見により、妊娠期運動が代謝性疾患の次世代伝播の実践的予防方策となることが分かった。また胎盤は運動応答性臓器であり、プラセントカインを通じて母体環境情報を伝達する新機能を持つことが強く示唆される。本演題では、これらの研究成果をもとに、母体から子への次世代情報伝播をどのように解析するか、胎盤機能の新定義の面から概説したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

New definition of placenta as the transmitter of exercise information to next generation

○Kusuyama J

FRIS, Tohoku Univ

Poor maternal diet increases the risk of obesity and type 2 diabetes in offspring, adding to the ever-increasing prevalence of these diseases. In contrast, we find that maternal exercise improves the metabolic health of offspring, and here, we demonstrate that this occurs through a vitamin D receptor-mediated increase in placental superoxide dismutase 3 (SOD3) expression and secretion. SOD3 activates an AMPK/TET signaling axis in fetal offspring liver, resulting in DNA demethylation at the promoters of glucose metabolic genes, enhancing liver function, and improving glucose tolerance. In humans, SOD3 is upregulated in serum and placenta from physically active pregnant women. The discovery of maternal exercise-induced cross talk between placenta-derived SOD3 and offspring liver provides a central mechanism for improved offspring metabolic health. These findings may lead to novel therapeutic approaches to limit the transmission of metabolic disease to the next generation. In this presentation, I would like to describe how to analyze the transmission of maternal information to offspring from the aspect of novel placental function.

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

AS-3 シングルセル解析が解き明かす骨再生機構—Cellular Plasticity—

○松下 祐樹^{1,2}

¹ミシガン大 歯 小児矯正, ²長大 院医歯薬 口腔腫瘍治療

歯肉癌による顎骨破壊や歯周病などにより失われた顎骨や歯槽骨の再生, 再建は歯科領域における重要課題であり, この課題を解決するためには骨の再生機構の統合的理解が不可欠である。

骨再生過程では, まず始めに唯一絶対の存在である間葉系幹細胞が損傷部位に集まり, その後自己複製と同時に骨芽細胞などの骨を形成する細胞に分化することで骨再生を引き起こすと長らく考えられてきた。しかしながら, 間葉系幹細胞は骨髄のどこに存在し, また骨再生時にどのように凝集し治癒に寄与するかは全く分かっていなかった。近年, 骨髄中に存在する CXCL12 陽性骨髄間質細胞 (CXCL12-abundant reticular cells: CAR 細胞) の一部が間葉系幹細胞としての機能を持つことが報告された。そこでわれわれは *in vivo* における CAR 細胞のダイナミクスの詳細を解析するため, *Cxcl12-creER* マウスを新規に作出し, CAR 細胞およびその系譜細胞を蛍光分子 tdTomato で標識することで細胞系譜追跡を行い, さらにシングルセル解析を併用し, 以下の新たな知見を得た。

- ・ CAR 細胞は多様な細胞から構成され, *Cxcl12-creER* は脂肪細胞分化マーカーを高発現する CAR 細胞の亜集団, すなわち Adipo-CAR 細胞を特異的に標識した。

- ・ 予想に反して, Adipo-CAR 細胞は, 分化の頂点に存在する間葉系幹細胞ではなく, むしろ終末分化した細胞であった。

- ・ 終末分化細胞である Adipo-CAR 細胞は, 骨再生時には分化の流れに逆流して間葉系幹細胞様の性質を獲得し, その後骨芽細胞に再分化して骨形成を惹起する性質 (細胞の可塑性: Plasticity) を持ち, 骨再生における新たなメカニズムが明らかになった。

本発表では細胞系譜追跡とシングルセル解析とが融合することによって初めて明らかにできた点を中心に紹介し, 様々な視点から議論したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Single-cell analysis unveils cellular plasticity of bone marrow stromal cells in bone regeneration

○Matsushita Y^{1,2}

¹Dept Orthodont Pediatr Dent, Univ Michigan Sch Dent, ²Dept Clin Oral Oncol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

It has been long considered that a small number of resident skeletal stem cells are solely responsible for the remarkable regenerative capacity of adult bones. However, recent *in vivo* lineage-tracing studies using *Cxcl12-creER* mice suggest that terminal differentiated dormant pre-adipocyte-like stromal cells in the marrow recruited to the injury site and collectively participate in regeneration of the damaged skeletal structure. Lineage plasticity appears to play an important role in this process, by which mature bone marrow stromal cells can transform their identities into skeletal stem cell-like cells in response to injury. These highly malleable, long-living mature skeletal cells readily available throughout postnatal life represent an ideal cellular source that can be exploited for regenerative medicine.

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

AS-4 上皮-間葉ネットワークにおける器官運命決定機構の解明

○吉崎 恵悟

九大 院歯 矯正

我々の体を構成する様々な器官は、その発生過程において厳密に制御され、それぞれの機能に即した特徴的な形態を呈するようになる。器官形成において、それぞれの細胞が無秩序に増殖すると形態形成が阻害されることから、なんらかの細胞間コミュニケーションを行いながら秩序だった器官形成が行われていることが予想される。上皮-間葉相互作用は、発生期の形態形成期において、ダイナミックな形態の変化を制御する上で重要な機構であるが、上皮と間葉どちらの細胞が形態形成の責任細胞であるかなど、詳細な機構は明らかとなっていない。

歯は、毛、唾液腺、肺および腎臓などと同様に、上皮-間葉相互作用により形成されることが知られている。これら器官は、その発生初期において、上皮が間葉に陥入するといった共通の機構が認められるが、その制御機構については不明な点が多い。これまでの研究で、歯から毛が生えるという表現系を呈する遺伝子欠損マウスの解析を経て、器官運命転換の可能性を見出した。このように、上皮-間葉相互作用により形成される器官は、我々が思っているよりも、遺伝子的に近い制御で運命決定がなされている可能性が考えられる。本セッションでは、我々が近年行ったトランスクリプトーム解析の結果をもとに、器官の運命がどのように決定されるのか、また、器官の運命転換が可能であるかについて論じたい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Elucidation of organ fate determination mechanism in epithelial-mesenchymal network

○Yoshizaki K

Sect Orthod, Kyushu Univ Grad Sch Dent

The development of various organs are strictly regulated and they exhibit their own characteristic morphologies that correspond to their respective functions. During organogenesis, cell-cell communication plays pivotal role for the organized morphogenesis. Epithelial-mesenchymal interaction is a critical regulator for dynamic morphological changes during organogenesis. However, the detailed mechanism of epithelial-mesenchymal interaction has not been clarified.

Teeth are known to be formed by epithelial-mesenchymal interactions, as well as hair, salivary glands, lungs and kidneys. Their organogenesis begin with a common mechanism, such as epithelial cell invagination into the mesenchyme in the early developmental stage, while the mechanisms are still unknown. In previous study, we have found that the possibility of organ fate conversion through analysis of gene-deficient mice that exhibit the phenotype of hair growth from teeth. Thus, it could be considered that the mechanisms of organogenesis of these organs are genetically closer. In this session, based on the transcriptome analysis, we would like to discuss about the fate determination during various organogenesis and the capabilities of alteration of their fate.

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

AD-1 歯科再生医学の展望と課題

○村上 伸也

阪大 院歯 口腔治療

病気や外傷等により、組織・臓器の機能や形態が損なわれた場合に、その状態を元の状態に「再生」することは、医師・歯科医師が目指す究極の治療目標の一つです。1990年代に Robert Langer らにより Tissue Engineering の考え方が広く紹介されるようになり、目標とする組織・臓器の特性に合わせて、幹細胞・シグナル分子・足場材の triad を至適に融合し医療として提供することにより、失われた組織・臓器を再生することが理論的に可能であることが広く認知されるようになりました。歯科に目を向けると、歯周治療における GTR 法の登場は、歯科の分野において再生医療が広く知られるきっかけとなりました。そして、1990年代以降、歯周組織再生療法が、歯周治療のオプションの一つとして定着すると、再生医療のコンセプトは歯学領域全般へと急速に拡大しました。そしてその結果として、Drilling and Filling と称された材料学に深く依存してきた歯科医療に、生物学に立脚した歯科再生医療が付加され、21世紀の歯科医学・歯科医療がさらに強靱なものになろうとしています。

今回のシンポジウムでは、歯科再生医学の発展の基盤を支える間葉系幹細胞・歯周組織幹細胞に関する理解の深化、歯科再生医療の開発を支えるシグナル分子・足場材の開発の現状を概説させていただきます。そして、その適応範囲や予知性を高めるために、如何なる課題が残されているのかを先生方と共に議論させていただく機会とさせていただきたいと思っております。

【利益相反】 著者は利益相反状態にあります。

Prospects and challenges of dental regenerative medicine

○Murakami S

Dept Periodontol, Osaka Univ Grad Sch Dent

One of the ultimate goals of treatment is to “regenerate” the function and morphology of tissue or organ that is damaged by disease or injury to its original condition. Based on the concept of Tissue Engineering that had been introduced by Dr. Robert Langer et al. in 1990s, it has been generally recognized that regenerating lost or damaged tissue or organ is theoretically possible by optimally fusing the triad of stem cells, signaling molecules, and scaffolds. In dentistry, the advent of GTR in periodontal treatment broadly introduced the possibilities of regenerative treatment. Since 1990s, periodontal regenerative therapy has been established as one of treatment options, and the concept of regenerative therapy has rapidly spread throughout the dental field. Now, biology-oriented regenerative therapy has been added to the conventional material-oriented dental treatment described as “Drilling and Filling”, making dental medicine in the 21st century more consolidate.

In this symposium, I am sharing the roles and characteristics of mesenchymal stem cells and periodontal stem cells with you, and also outlining the current situation of the development of signaling molecules and scaffolds. Further, I would like to take this opportunity to discuss with you to clarify their issues to be resolved.

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

AD-2 基礎歯学研究の進化と展望

○石丸 直澄

徳大 院医歯薬 口腔分子病態

この20年間で口腔領域における様々な生命現象の分子機序が解明されてきました。特に骨分子生物学などは飛躍的に進展しており、歯学研究の中核を担っています。一方で、口腔領域に発生する免疫難病や悪性疾患に関しては、未だ病因論に基づいた治療法の開発には至っていないのが現状であり、病態機序の解明とともに根本的な治療法の開発が切望されています。本シンポジウムでは基礎歯学研究の中で、いくつかの免疫難病研究に焦点を当て、疾患モデルを中心とした最新の研究内容を紹介するとともに、臨床応用に向けたトランスレーショナルリサーチの可能性を示したいと思います。また、先端歯学国際教育研究ネットワークの今後の展望について、基礎歯学研究の面から議論させていただきます。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Revolution and perspective of basic research in oral science

○Ishimaru N

Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

A variety of molecular mechanisms of life phenomenon have been clarified in the oral science during the last twenty years. In particular, the research in bone molecular biology has been dramatically developed in all the dental science. On the other hand, the development of therapy of chronic diseases in oral region, such as immune disorder or malignant tumor, based on the pathogenesis has not been still succeeded. New therapeutic strategy together with elucidation of molecular mechanism of incurable oral disease has been largely desired. In this session, several studies focusing on immune disorders are explained and a translational research is discussed for clinical application. In addition, a perspective of the Advanced Dental Network for International Education and Research will be also discussed in the point of basic dental research.

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

AD-3 2型自然リンパ球による肺線維症発症メカニズム

○茂呂 和世^{1,2}

¹阪大 院医 生体防御, ²理化学研 生命医科学研究セ 自然免疫システム研究

2型自然リンパ球 (Group 2 innate lymphoid cells : ILC2) は, 寄生虫感染時に上皮細胞から産生される IL-33 によって活性化し, ILC2 は IL-2, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13, GM-CSF などの2型サイトカインを産生することで, 寄生虫感染に対して好酸球浸潤や粘液産生など防御反応を示す. 一方で寄生虫感染がほとんど見られなくなった先進国では, アレルゲンの持つプロテアーゼ活性によって死んだ上皮細胞が放出する IL-33 が ILC2 を活性化し, 寄生虫感染時同様2型サイトカインを産生する事でアレルギー症状を悪化させる. ILC2 はアレルギーだけでなく, 多様な免疫疾患で重要性が示されている.

最近, ILC2 は線維化に関わる IL-4, IL-13, Amphiregulin, TGF β など, 多様なサイトカインを産生することが明らかになってきた. 特発性肺線維症患者の肺胞洗浄液で ILC2 が優位に増加することがすでに報告されており, 我々の研究室で作製した ILC2 活性化マウスは肺の線維化が自然発症することが明らかになったことから, ILC2 がどのように線維化を誘導するのかについて最新の技術を用いて解析している.

【利益相反】 著者は利益相反があります.

The role of group 2 innate lymphoid cells in lung fibrosis

○Moro K^{1,2}

¹Lab for Innate Immune Systems, Grad Sch Med Osaka Univ, ²Lab for Innate Immune Systems, RIKEN Cent for Integrative Med Sci (IMS)

Group 2 innate lymphoid cells (ILC2s) produce type 2 cytokines in an antigen-independent manner. During type 2 inflammation, ILC2s produce IL-6, IL-9, and GM-CSF, particularly IL-5 and IL-13, following cell activation by epithelial cell-derived cytokines, including IL-25 and IL-33. Activated ILC2s contribute to the initiation and exacerbation of type 2 inflammatory processes, such as allergic diseases and helminth infections.

Idiopathic interstitial pneumonia (IIPs) are a set of diseases characterized by inflammation and fibrosis in lungs. Many researchers have investigated the pathogenesis of IIPs to develop new medication, however a comprehensive mechanism for these diseases has not been clarified yet. One of the main hindrances to increasing current understanding of IIPs is the lack of appropriate mouse models. By knocking out two genes which are involved in the suppression of ILC2, we have established a new and better mouse model for IIPs compared to conventional models. In lungs of this mouse model, inflammation and subsequent fibrosis spontaneously occurs without any drug administration. Using this new model, we carried out single cell RNA-seq analysis to reveal the whole landscape of pulmonary fibrosis, from initiation to the progressive phase.

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

AD-4 細胞は浸透圧という目に見えないフォースを内側から感じる

○一條 秀憲

東大 院薬 細胞情報

ストレス応答は細胞が持つ最も基本的な生命現象のひとつであり、その破綻は、がん、神経変性疾患、免疫疾患、代謝性疾患などをはじめとする多様な疾患の発症要因となります。私たちの研究グループは、細胞の恒常性維持に深く関わる様々なストレス応答（酸化ストレス、浸透圧ストレス、小胞体ストレス、ミトコンドリアストレスなど）と、私たちが世界に先駆けて明らかにしてきたそれらストレスの受容・認識の「鍵となる分子群」に焦点を当てながら、過去四半世紀に亘り、一貫してストレス受容から細胞応答に至る一連のストレスシグナルの解明とそれに基づく創薬基盤の形成を目指してきました。

本講演では、特に浸透圧ストレス応答に関する私たちの最新の知見についてご紹介します。細胞は、内外の浸透圧差によって強制的に体積を変化させられるストレス（=浸透圧ストレス）に常に曝されており、浸透圧変化を感知して適切に応答することで細胞体積を一定に保っています。これまでは、細胞外環境と接する細胞膜上の変化などを介して物理的実体のない浸透圧変化を感知するという考え方に基づいた研究が主流でした。私たちは、ASK3 というタンパク質を研究モデルに分子生物学・生化学的手法と計算機シミュレーションを用いて、細胞が液・液相分離という物理現象を「引き金」として浸透圧ストレスを細胞内部で感知していることを解明しました。

このような「オリジナルな基礎研究」を一例として、ストレスシグナルや細胞生物学の面白さをご紹介できればと思います。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Cells intracellularly sense the invisible force of osmosis

○Ichijo H

Lab Cell Signaling, Grad Sch Pharmaceut Sci, The Univ of Tokyo

Stress response is one of the most fundamental biological phenomena of cells, and its disruption is a factor in the pathogenesis of diverse diseases, including cancer, neurodegenerative diseases, immune diseases, and metabolic diseases. Our research group has been focusing on the "key molecules" for the sensing and recognition of these stresses. For the past quarter century, we have been aiming at elucidating a series of stress signals from stress reception to cellular responses and forming the basis for drug discovery based on these signals.

In this talk, I will introduce our latest findings on osmotic stress response in particular. Cells are constantly exposed to osmotic stress (i.e., forced volume changes due to osmotic pressure differences between the inside and outside of the cell), and maintain a constant cell volume by sensing and responding appropriately to osmotic pressure changes. Until now, most research has been based on the idea that osmotic changes are sensed through changes in the cell membrane, which is in contact with the extracellular environment. Using the ASK3 protein as a research model, we have elucidated that cells sense osmotic stress internally via physical phenomenon of liquid-liquid phase separation as a "trigger".

I would like to use such "original basic research" as an example to introduce the fun of stress signaling and cell biology.

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

KDS-1 COVID-19 感染に対する唾液・唾液腺研究における唾液腺学会と歯科基礎医学会の役割

○天野 修
明海大 歯 解剖

唾液に COVID-19 が含まれることや、検体として唾液が有効であることは感染初期から研究され、最近では実用化も行われている。しかし感染が急速に拡大し、学会等の開催も多くの制限があったために、研究の状況については十分に周知されているとは言い難い。また、唾液腺組織に対する COVID-19 の影響についてもまだ十分に解明されていない。

日本唾液腺学会は唾液腺に関する我が国で唯一の学際的な全国規模の学会であり、1956年に「唾液腺ホルモン研究会」という名称で発足し、主として唾液腺内分泌の基礎的・臨床的研究が行われたが、現在は唾液と唾液腺のあらゆる研究・臨床領域について活発な発表と議論が行われている。

また、歯科基礎医学会でも毎回多くの唾液・唾液腺研究に関する発表があり、従って両学会で話題を共有することは今後の研究や検査、治療に大いに貢献できる。

本共催シンポジウムで、焦眉の急である COVID-19 感染収束に貢献する有意義な発表と活発な議論を大いに期待する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Roles of Japan Salivary Gland Society and Japanese Association for Oral Biology in the saliva/salivary gland research against COVID-19 infection

○Amano O
Div Anat, Meikai Univ Sch Dent

Studies on COVID-19 in human saliva and the usefulness of saliva as specimen have been activated from the early period of worldwide infection of Covid-19. Because the infection spread rapidly and off-line congresses were limited, it is difficult to say that the latest studies and situations are well-known. Additionally, induced reactions in salivary gland tissues/cells by COVID-19 have not been fully clarified. The Japan Salivary Gland Society is the only interdisciplinary society on salivary gland research in Japan. The society was established in 1956 as "The Society of Salivary Gland Hormone" to discuss the endocrinology of the salivary gland, however, recent presentations in the society include all areas of the saliva and salivary gland.

In the Japan Association for Oral Biology, studies on the saliva and salivary gland have also been presented actively, therefore, both societies are expected to contribute to future study, inspection, and treatment by sharing the latest topics by active researchers investigating COVID-19 and the saliva/salivary glands.

The latest topics and related discussions in this co-sponsored symposium contribute to stamping out the spread of COVID-19.

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

KDS-2 新型コロナ唾液検査法

○豊嶋 崇徳^{1,2}¹北大 院医 血液内科, ²北大病院 検査・輸血

新型コロナの PCR 検査には鼻咽頭スワブ検体が標準である。しかし採取者を必要とし採取リスクもある。我々はより簡便、安全な自己採取唾液検体と鼻咽頭スワブの検査精度を世界的にも大規模な前向き研究において比較した。無症状者および有症状の 2042 例において両検体の診断一致率は 99.2% であり、感度、特異度も同等であった。米国における大規模比較研究や複数のメタ解析でも同様な結果であり国際的なコンセンサスが得られた。唾液検査の導入により大規模なマスクリーニングが可能となり、無症状感染者の洗い出しに用いられている。一方、PCR 検査は信頼性が高いものの結果が出るのに時間を要す。そこで検査時間短縮を目指して産学共同研究を行い、唾液を用いた時短 PCR 検査、LAMP 法を確立した。抗原検査では定性法では唾液検体の感度は鼻咽頭液に劣ったが、定量法では PCR 法にはやや劣るものの唾液検体で高い感度が得られた。無症状者の大規模スクリーニングの運用においてはスピードと効率が求められる。そこで検体には自己採取唾液を用い、検査は最初に抗原定量検査でふるいをかけ、グレーゾーンの値の場合に PCR 検査あるいは LAMP 検査で確定する 2 段階法を提唱した。感染状況、検査運用体制状況に応じて定量抗原検査の陰性、陽性の閾値を変化させることで最適な検査の運用ができるため、現在、国際空港検疫で実施されている。また、自己採取唾液を用いた検査は航空会社など民間検査の導入の道を開いた。

【利益相反】 著者は利益相反状態にあります。

奨学寄附金：協和キリン、中外製薬、サノフィ、アステラス製薬、帝人ファーマ、富士製薬、日本新薬

講演料等：ノバルティス、MSD、協和キリン、武田薬品、ファイザー、 Bristol

その他：ヤンセンファーマ、ノバルティス

Detection of SARS-CoV-2 using saliva

○Teshima T^{1,2}¹Dept Hematol, Hokkaido Univ Fac of Med, ²Div Lab Med Blood Transfusion, Hokkaido Univ Hosp

Although standard sample for PCR detection of SARS-CoV-2 has been nasopharyngeal swab (NP) samples NPS sampling requires healthcare workers and poses risk of transmission to them. We compared utility of NPS samples and saliva samples in a prospective large-scale study. Diagnostic concordance was 99.2%, and sensitivity and specificity of NPS and saliva were comparable in 2042 asymptomatic or symptomatic individuals. Similar results were obtained in studies from other groups and meta-analysis. Altogether, saliva is a useful tool to detect SARS-CoV-2 and is now using to detect asymptomatic persons in large-scale mass-screening settings. However, PCR testing is time-consuming. Our industry-academia collaborative research showed that saliva can be utilized for LAMP detection of SARS-CoV-2. Sensitivity of SARS-CoV-2 antigen qualitative test using saliva was much better than that of SARS-CoV-2 antigen quantitative test. A comprehensive strategy is needed to increase diagnostic testing capabilities for mass screening of SARS-CoV-2 at large venue. We did a diagnostic accuracy study to develop a mass-screening strategy for salivary detection of SARS-CoV-2 by qualitative antigen test, followed by a confirmatory PCR test. This two-step strategy is simple and provides results quickly, and is thus suitable for mass testing.

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

Grants from Kyowa Kirin, Chugai, Sanofi, Astellas, TEIJIN PHARMA, Fuji Pharma, NIPPON SHINYAKU, Personal Fees from Novartis, Merck, Kyowa Kirin, Takeda, Pfizer, Bristol-Myers Squibb, Non-Financial Support from Janssen, Novartis;

KDS-3 口腔・唾液中の SARS-CoV-2

○今井 健一

日大 歯 細菌/歯学総合研 生体防御

SARS-CoV-2 と口腔との関連性が少しずつわかってきています。パンデミックの一日も早い収束を願うばかりですが、未曾有のこの経験を後世に伝え、人類が類似のパンデミックに備えることは重要です。

舌や小唾液腺を含む口腔粘膜に SARS-CoV-2 の受容体が多く発現していたり、唾液が COVID-19 の検査に使用されたりしていることから、口腔が改めて注目されています。これまでに、唾液（下気道分泌物や上咽頭分泌物を含む）には SARS-CoV-2 が存在することが示されていましたが、最近、口腔粘膜の細胞にウイルスが感染していることや、小唾液腺で増殖したウイルスが唾液中に排出される証拠が示されました。加えて、唾液中に排出されたウイルスが感染性を有することも明らかとなり、口腔は SARS-CoV-2 のリザーバーあるという概念が確立しつつあります。また、その併存が COVID-19 を重症化させやすい慢性閉塞性肺疾患 (COPD) や糖尿病は歯周炎や口腔細菌とも深く関係しています。

私たちの研究室では、歯周病原菌と下気道炎症との関連を検討してきましたが、昨年以降は口腔における EBV や HIV 研究に加え、SARS-CoV-2 感染者の唾液を用いた研究も進めています。これらの研究は口腔と COVID-19 を含む下気道炎症との関連を分子レベルで検証するために、また飛沫感染を理解し具体的な SARS-CoV-2 感染対策を提案するためにも重要であると考えます。

本講演では、SARS-CoV-2 感染と口腔・唾液との関係で、これまでに分かっていることを整理するとともに、私たちの口腔におけるウイルス研究の成果の一部を紹介させていただきます。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

SARS-CoV-2 in the oral cavity/saliva

○Imai K

Dept Microbiol, Div Immunol and Pathobiol, Dent Res Cent, Nihon Univ Sch Dent

Our understanding about the relationship between SARS-CoV-2 and the oral cavity has gradually increased. While we hope that the ongoing pandemic soon comes under control, it is important for humanity to pass on this unprecedented experience to future generations and prepare for similar pandemics in the future.

Since SARS-CoV-2 entry receptors are expressed at high levels in the oral mucosa (including the tongue and minor salivary glands), and saliva is used for COVID-19 testing, the focus on the oral cavity has increased. It has been previously demonstrated that SARS-CoV-2 is present in saliva (including lower respiratory tract secretions and nasopharyngeal secretions). Recent studies have provided evidence that the cells of the oral mucosa are infected with the virus and that the virus, which propagates in the minor salivary glands, is released in the saliva. In addition, the virus released in the saliva has been demonstrated to be infectious, and the concept that the oral cavity is a reservoir of SARS-CoV-2 is becoming established. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and diabetes, whose presence tends to cause severe symptoms of COVID-19, are also closely related to periodontitis and oral bacteria.

Our laboratory has been investigating the relationship between periodontal pathogens and lower respiratory tract inflammation. Since last year, we have also been conducting research using saliva from persons infected with SARS-CoV-2. These studies are important for verifying the relationship between the oral cavity and lower respiratory tract inflammation (including COVID-19) at the molecular level and for understanding droplet transmission and proposing specific measures to control SARS-CoV-2 infection.

In this presentation, we will summarize the current understanding about the relationship between SARS-CoV-2 infection and the oral cavity/saliva and introduce part of our research results.

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

KDS-4 新規消毒薬を目指す MA-T の効果とそのメカニズム

○安達 宏昭

阪大 院薬 MA-T 酸化制御学共同研究

日本で開発された酸化制御システムで、新規消毒剤として開発している MA-T (エム・エー・ティー) は、Matching Transformation system の略である。活性化の強弱を制御することで、広範な応用展開が期待できる。その内の一つである要時生成型亜塩素酸イオン水溶液は、新型コロナウイルスに対する有効性が実証されており、感染症対策の新技术として期待されている。現在、新規医薬品登録を目指し、申請が進められている。

MA-T のメカニズムは、2015 年に大阪大学で解明され、水溶液中で必要な時に必要な量だけ水性のラジカル活性種が生成される仕組みであることが分かった。MA-T は無色透明で無臭、およびガス化しないことを特長とする水溶液であり、化学平衡によりラジカル活性種の生成を制御する仕組みである。ウイルスや細菌、ニオイ物質に作用して、ラジカル活性種が消費されると、すぐさま亜塩素酸イオンが化学反応により、水性のラジカル活性種に変化することで補充される。この絶妙なバランスで化学平衡を維持する MA-T の仕組みにより、従来の除菌消臭剤・消毒剤ではトレードオフの関係であった効果と安全性を両立することができるようになった。

MA-T により生成される水性のラジカル活性種は、強い酸化力を持ち、ウイルスや細菌に作用して、不活化や殺菌を実現する。新型コロナウイルス SARS-CoV-2 に対する効果も大阪大学微生物病研究所にて検証済みで、50 ppm (0.005%) の MA-T を 1 分間、接触させることで 99.98% 不活化できることが分かった。

一方、安全性を最も重視して開発された MA-T は、第三者機関による急性経口毒性試験やヒトパッチ試験、眼刺激性試験などの各種安全性試験をクリアしている。また、金属やプラスチックに対しても腐食性がなく、多くの場面や環境で安心して使用できる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Effectiveness of MA-T, a new disinfectant candidate, and its mechanism

○Adachi H

Lab of MA-T Oxidation Control Sci, Grad Sch Pharmaceut Sci, Osaka Univ

MA-T achieves a compatibility between bactericidal effects and safety, which have been trade-offs in conventional sterilization. The mechanism of MA-T was clarified at Osaka University in 2015. We call MA-T on-demand chlorite ion solution because of a new mechanism for generating aqueous radicals in the required amount when needed.

As a result of the demonstration test for the Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) at the research institute for microbial diseases in Osaka University, 99.98% inactivation was confirmed at a concentration of 50 ppm (0.005%) MA-T aqueous solution. Highly effectiveness against various viruses and bacteria has been shown despite the low concentration of MA-T.

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

KDS-5 唾液腺における ACE2 の発現と MA-T を用いた口腔ケア用品の開発

○阪井 丘芳

阪大 院歯 顎治

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) に感染する際、宿主細胞側に存在する受容体としてアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) が知られています。遺伝子データベースでは、肺と同様に唾液腺にも ACE2 が発現することが示唆されていましたが、過去にヒト唾液腺組織に ACE2 タンパクが局在する根拠論文は報告されていませんでした。

2020 年、我々はヒト口腔・咽頭粘膜に存在する小唾液腺・大唾液腺の導管上皮に ACE2 が著明に発現することを明らかにしました。本結果により、SARS-CoV-2 は肺に直接感染するケースと唾液腺に感染するケースが考えられるようになりました。健康な若年者が感染する場合、無症候感染や軽症患者として、唾液の飛沫から SARS-CoV-2 を拡散し、後遺症も比較的少なく治癒していきます。しかしながら、高齢者や呼吸器疾患患者の場合、感染すると自らの唾液を誤嚥 (不顕性・顕性) し、呼吸器感染から重篤化する傾向があります。免疫機能の差だけでなく口腔機能の差により症状の悪化が生じる可能性が示唆されました。

これまでに我々は誤嚥性肺炎を防ぐために口腔ケア活動を行ってきました。そこで新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) に対する対策を考慮し、「MA-T」(要時生成型亜塩素酸イオン水溶液) を用いた口腔ケア用品を開発しました。MA-T は画期的な触媒技術により、通常はほぼ水に近い状態でありながらウイルスや菌がある時だけ姿を変えて攻撃し分解します。高い安全性を備えた優れた除菌消臭剤です。さらに開発中に、喀痰・剥離上皮・血餅を柔らかくして、除去しづらい口腔内の汚染物を安全に除去できる作用を見出しました。コロナ禍の医療現場・介護現場における新たな感染対策として提案していきたいと思えます。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

ACE2 expression in human salivary gland and new development of oral care product using MA-T

○Sakai T

Dept Oral-Facial Disorders, Osaka Univ Grad Sch Dent

Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) is known as a receptor of SARS-CoV-2. The gene database indicated that ACE2 is expressed in the salivary glands as well as in the lungs, but no evidence has been reported in the past for the localization of the ACE2 protein in human salivary gland tissue. We discovered that ACE2 is markedly expressed in the ductal epithelium of human salivary glands. SARS-CoV-2 can directly infect the lungs and salivary glands. When a healthy young person is infected, SARS-CoV-2 is spread via saliva droplets from an asymptomatic or mildly ill patient, and the aftereffects are relatively few and recovery is fairly rapid. However, in the case of elderly people with respiratory diseases, when infected, they tend to aspire their own saliva and thus causing a potentially life-threatening respiratory infection. It was suggested that differences in oral function may cause worsening of symptoms. Therefore, in consideration of countermeasures against COVID-19, we have developed a new oral care product. MA-T uses epoch-making catalytic technology and attack only when there are viruses and bacteria. I would like to introduce this new infection control method at medical and nursing care sites of coronavirus.

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

IRS-1 再生医療における金属材料の役割と課題

○埜 隆夫^{1,2}

¹医科歯科大 生材研, ²神戸大 未来医工

再生医療における足場材料の役割は、幹細胞が組織を再生するための足場となることであり、組織再生過程あるいは再生後に分解して消失することが期待されている。そのため、足場材料としては生分解性高分子、生体由来高分子、リン酸カルシウム系セラミックスとこれらの複合材料が提案されており、金属材料は足場材料とは無縁のものと考えられてきた。しかし、生分解性的高分子やセラミックスでは十分な強度を得られないことがあり、再生臓器・器官にある程度以上の大きさと耐久性を確保するために金属は有効な材料である。金属材料の場合、組織再生後も永久に体内に残ることになり、比較的生体組織適合性の高いチタンとその合金が使用されることになる。現在では、チタンのメッシュ、ファイバー、多孔質シートなどの使用が可能になっている。足場材料として使用する場合でも、歯科、整形外科、循環器科などで使用されている体内埋植デバイスとしての金属材料の特性を知ることが、成功への必須条件となる。

金属材料を用いて組織再生足場を開発する際には、生体適合性のみならず、使用する部位と要求される機械的性質に基づいて足場材料を設計することが必要となる。金属材料に良好な生体適合性や生体機能性が付与できれば、その利用範囲は大きく広がる。近年の表面機能化技術とその評価技術の進歩によって、材料表面の生体適合化・機能化は研究レベルでは10年前には予測できなかった進歩を遂げている。これらの生体適合化・機能化技術は、金属材料の再生医療の足場材料への応用を可能にする。

ここでは、チタン合金デバイスを小型化しても延性を維持しつつ強度を向上させる新プロセス技術の開発、MRIアーチファクトを低減できる新合金の開発、骨形成と抗菌性を同時に発現するデュアルファンクション表面の創出、微細周期構造による幹細胞の分化制御など、金属を再生医療に利用するために必要となる技術開発について述べる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Roles and issues of metals in regenerative medicine

○Hanawa T^{1,2}

¹Inst Biomater Bioeng, Tokyo Med Dent Univ, ²Cent Adv Med Eng Res Dev, Kobe Univ

The role of scaffold materials in regenerative medicine is to be scaffold for tissue regeneration, and they are expected to degrade for the elimination after the regeneration of target tissues. Therefore, biodegradable polymers, biopolymers, calcium phosphate ceramics, and their composites are candidates of scaffold materials, while metals is thought to be independent from scaffold materials. However, if strengths of biodegradable polymers and ceramics were not sufficient, metals are effective as a scaffold to maintain the dimension and durability of regenerative organs and tissues. Metal scaffolds residue permanently in the human body. Therefore, titanium and its alloys with good tissue compatibility are used. It is possible to use meshes, fibers, porous sheets, etc. made of titanium now a days. It is necessary to understand properties of metals as medical devices in dentistry, orthopedics, and cardiology, even in the use as scaffold. In this lecture, development of a new process to increase the strength of a titanium alloy remaining the elongation and new alloys decreasing MRI artifact, creation of dual functional surface appearing both bone formation and antibacterial property simultaneously, and control of differentiation of stem cells on micro/nano patterns.

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

IRS-2 新しいバイオマテリアル：脱細胞化組織の可能性

○岸田 晶夫

医科歯科大 生材研 物質医工

生体組織は、細胞とコラーゲンなどの細胞外マトリックス (Extracellular Matrices : ECM) で構成されており、生体組織から細胞成分を除去して得られる脱細胞化組織は、移植用および再生医療用の足場材料など新しいバイオマテリアルとして注目されている。脱細胞化組織は一般的なコラーゲンやゼラチン、脱灰骨などの加工・精製された材料と異なり、生体の複雑な三次元構造をマイクロメートルレベルで保持していることが特徴である。脱細胞化組織の製品は米国において現時点で 50 品目を超えており、新しい医療デバイス素材として定着しつつある。国内でも 2015 年に、真皮欠損用グラフトとしてブタ小腸粘膜下組織由来の「OASIS 細胞外マトリックス (Cook Japan 株式会社)」が保険適用となるなど徐々に広がりを見せている。脱細胞化組織はヒト、ブタ、ウシ、ヒツジなどの動物組織が出発材料として用いられており、下記のような特徴を有している。①多くの脱細胞化組織は化学架橋されておらず、また脱細胞化工程を選択することによって組織構造を損傷することが少なくできるため、物性が生体組織とほぼ同等のものが得られる。②理由は不明であるが、生体内に移植された場合に異物反応 (炎症反応) が少ないことが知られている。③化学架橋されていないために脱細胞化組織内に細胞が浸潤し、組織のリモデリングが生じるといわれている。④上で示したように、リモデリングが生じるため、小児に移植された場合、宿主の成長に従って、移植された脱細胞化組織も成長すると考えられている。⑤脱細胞化組織の粉末を創傷部位に塗布すると、創傷治癒が促進され、また部分的な組織再生もおこると報告されている。一方で、⑥採取動物によるサイズや構造差異の影響が大きい、⑦免疫原性の可能性、⑧組織によって分解性が異なる、⑨滅菌安定性が低い、などについては注意が必要である。このような特徴を生かした新しい組織工学・再生医療の可能性が期待されている。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Decellularized tissue as a new biomaterial

○Kishida A

Div Mater-based Med Eng, Inst Biomater Bioeng, Tokyo Med Dent Univ

Decellularized tissues, which are obtained by removing cellular components from biological tissues, are attracting attention as new biomaterials. Decellularized tissue is characterized by the fact that it retains the complex three-dimensional structure of the living body. At present, there are more than 50 decellularized tissue products in the U. S. Decellularized tissues have the following characteristics (1) Many decellularized tissues are not chemically cross-linked, and by selecting the decellularization process, the tissue structure can be minimally damaged, so the physical properties are almost the same as those of living tissues. (2) It is known that there is less foreign body reaction (inflammatory reaction) when transplanted in vivo. (3) The absence of chemical cross-linking allows cells to infiltrate into the decellularized tissue. (4) Decellularized tissue is expected to grow as the host grows. (5) Wound healing is accelerated by using decellularized tissues. On the other hand, it should be noted that (6) the size and structure of decellularized tissues vary greatly depending on the animal, (7) immunogenicity is possible, (8) degradability varies depending on the tissue, and (9) sterilization stability is low. These characteristics are expected to be utilized for new tissue engineering and regenerative medicine.

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

IRS-3 次世代の再生補綴歯科治療に向けたイノベーションロードマップ

○江草 宏

東北大 院歯 分子・再生補綴

補綴歯科治療を歴史的に見ると、失った歯や顎骨に対して材料を利用して元の状態に置き換える概念に始まる。義歯による置換を中心に発展した補綴歯科治療は、二十世紀半ばにオッセオインテグレーションが発見されたことで、人工材料を体内に一体化させるインプラント治療のオプションを手に入れた。また、20世紀後半には、補綴という置換治療に対して軟組織を含めた審美的な回復のニーズが高まり、補綴歯科治療は再生治療のコンセプトを取り入れるようになる。さらに近年、補綴歯科治療はインプラント治療に骨造成などの再生治療を組み合わせながら発展し、これまで以上に審美性を伴う機能回復を可能にしつつある。ただし、既存の再生治療技術は骨補填材や生体活性因子などの材料が中心であり、大きな顎堤欠損に対しては“efficacy (効力)”は認めるものの、“effectiveness (有効性)”についてのエビデンスは限定的である。一方、再生治療の予知性を高めるべく、研究者は幹細胞やバイオマテリアルなどの先端技術を取り込みながら、既存技術にイノベーションをもたらそうとしている。同時に、再生歯科治療の実現には費用対効果の課題に目を向けなければならない。我々はこれまでにiPS細胞から骨様オルガノイドを作製し、これを凍結乾燥して骨補填材にする技術を確認してきた。本材料は骨再生を促す因子を豊富に含み、優れた骨形成能を持つ一方で、生きた幹細胞を用いた治療にまつわる高コストや腫瘍形成の回避を可能にする。また、我々は幹細胞を移植することなくインプラントに歯根膜を付与する技術の開発に向け、チタン表面をセメント質様にナノ改質することで生体内の幹細胞に働きかけ、インプラント周囲への歯周組織の誘導を試みている。本講演では、これら研究成果を紹介しながら、次世代の再生補綴歯科治療に向けたイノベーションロードマップ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。

An innovation roadmap toward the next generation regenerative prosthodontics

○Egusa H

Div Mol Regen Prosthodont, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Historically, the field of prosthodontics originated from the idea of managing missing teeth by “replacement prosthodontics” using artificial materials. In the 1980s, the requirements of alveolar ridge preservation/augmentation associated with esthetic prosthetic/implant treatments gradually expanded the clinical concept to include tissue engineering and regenerative medicine. Currently, bone augmentation techniques using scaffolds and growth factors are widely used in clinical practice; however, they are not always effective, particularly in challenging bone defects. Solutions to overcome these limitations may include stem cell-based regenerative medicine, which provides more a robust concept of “regenerative prosthodontics” for our field. We have successfully fabricated osteoinductive bioengineered bone grafts using induced pluripotent stem cells, which possess high bone regeneration capacity even after lyophilization as a freeze-dried bone graft material. We have also found that titanium implants with nano-surfaces, mimicking properties of tooth cementum, generate periodontal ligament (PDL)-like structures around the implant. It is thus expected that PDL-hybrid implants will provide a future alternative to current osseointegrated implants. In this presentation, I will talk about our innovation strategy toward the next generation regenerative prosthodontics, with an emphasis on cutting-edge research approaches using stem cells and nanotechnologies.

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

IRS-4 唾液腺 3次元培養法の開発

○美島 健二

昭大 歯 口腔病理

頭頸部癌の放射線治療後などにみられる重篤な唾液分泌機障害に対する治療法として、再生医療の応用が検討されている。すなわち、生体外で培養増幅した幹・前駆細胞を障害された唾液腺組織に移入することにより失われた腺組織を再生し分泌機能の回復を図るというものである。生体外での細胞増幅方法は、従来の2次元培養法から3次元培養法である salisphere や organoid 形成に移行し、*in vitro* においてもより生理的な唾液腺組織の誘導が可能となっている。特に、自己組織化技術を応用することにより *in vitro* で作出されたオルガノイドは、極めて生体内の臓器に近い性格を有していることが知られ注目されている。ここでは、演者らが作出に成功したマウス ES 細胞由来唾液腺オルガノイドについて紹介する。まず、演者らは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つの遺伝子を同定した。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、三次元的な唾液腺原基の作出に成功した。ES 細胞から誘導された唾液腺原基（誘導唾液腺原基：iSG）は、形態学的な特徴や遺伝子発現解析からも胎生期唾液腺原基に類似していた。また、耳下腺を摘出したマウスに、iSG を同所性移植することにより、唾液分泌促進薬や味覚刺激により、iSG から唾液が分泌されることが確認された。さらに、演者らは、最近、ヒト iPS 細胞から唾液腺オルガノイドの作製に成功しており、臨床への応用が期待されるが、*in vitro* で作出されたオルガノイドはサイズが小さく改善が必要な点も見受けられる。今後、スキャホールドやバイオプリンティング技術などの組織工学を応用することにより、生体内の唾液腺により近似したオルガノイドが作出できるのではないかと考えている。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Development of salivary gland three-dimensional culture model

○Mishima K

Div Pathol, Showa Univ Sch Dent

Regenerative medicine is a promising treatment for severe hypofunction of salivary glands caused by radiation therapy for patients with head and neck cancer. Cultured stem/progenitor cells are essentially transplanted into damaged salivary glands. Two-dimensional (2D) cultures for expansion of these cells have been replaced by three-dimensional (3D) cultures such as salisphere and organoids because 3D culture can produce more physiological structure than 2D culture. Especially, organoids are known 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. Also, we have been recently succeeded in making of human iPS-derived iSG. Human iSG is expected to be applicable for clinical treatment in combination with tissue engineering with scaffold and bioprinting.

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

BS-1 顎骨壊死の病態と評価

○北川 善政¹, 浅香 卓哉¹, 佐藤 淳¹, 網塚 憲生²

¹北大 院歯 口腔診断内科, ²北大 院歯 硬組織発生

骨吸収抑制薬関連顎骨壊死 (ARONJ) や放射線性顎骨壊死 (ORN) は, 口腔顎顔面領域の炎症性病変の中では最も難治性の疾患の一つである. 顎骨壊死に加え, 歯性の慢性化膿性骨髄炎 (Odont) や細菌感染が原因ではないび慢性硬化性顎骨骨髄炎 (DSO) などの顎骨骨髄炎に対する画像診断としては, パノラマ X 線写真・CT・MRI, 骨シンチグラフィによる評価が一般的であるが, 北海道大学病院口腔内科ではこれらに加え FDG-PET による画像診断を行っている. 今回, ARONJ, ORN, DSO, Odont の 4 種類の骨髄炎における 3-phase 骨シンチと FDG-PET の関係, 高気圧酸素療法 (HBO) の効果を PET でモニターし, 骨髄炎の病態解明を試みた.

1. 4 種類の難治性顎骨骨髄炎における核医学検査の応用

4 種類の骨髄炎における FDG-PET を比較したところ, ARONJ では平均 SUV_{max} は 5.1 であり, DSO (2.3), Odont (2.4), ORN (2.9) に比べて有意に高い値を示した. ARONJ の病態としては無菌性の顎骨壊死由来か, 細菌性顎骨骨髄炎によるものか, その発症機転に関しては議論の余地があるが, 少なくとも手術適応となるステージ 2・3 の MRONJ では細菌感染を伴う顎骨骨髄炎が認められ, 炎症状態にあることは言うまでもない. 機能画像の FDG-PET で ARONJ の活動性の評価が可能であることが示された.

2. FDG-PET による HBO の効果のモニタリング

HBO 治療プロトコールは, 術前 20 回 HBO, 手術, 術後 10 回 HBO とし, 必要に応じて抗菌薬を併用している. ORN と MRONJ に対して HBO を行い, HBO 前後で FDG-PET で評価した. ARONJ では SUV_{max} は 5.08 から HBO 後 3.99 に有意に低下した. FDG-PET で MRONJ の活動性の評価が可能であることが示された. 病理組織学的には HBO により活性化された結果, スムースなセメントライン上に形成される骨形成「mini-modeling」が観察された.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

Imaging characteristics and evaluation in osteonecrosis of the jaw by FDG-PET (Overview 1)

○Kitagawa Y¹, Asaka T¹, Sato J¹, Amizuka N²

¹Dept Oral Diagn Med, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ²Dept Deve Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Antiresorptive agent-related osteonecrosis of the jaw (ARONJ) is one of the most complicated inflammatory conditions in oral and maxillofacial region. It is very difficult to correctly evaluate the degree and extent of necrosis and infection. This refractory osteonecrosis often needs extended surgery, leading to impaired quality-of-life. We have performed hyperbaric oxygen therapy (HBO) combined with conservative surgery for advanced cases. We have appraised the value of FDG-PET and 3-phase bone scintigraphy in the diagnosis and management of this condition. ARONJ showed significantly higher SUV_{max} on FDG-PET than the others. Although the 3 phase pool bone images did not change significantly, perfusion and static bone image as well as PET showed remarkable response to HBO for ARONJ. SUV_{max} after HBO was significantly lower than those of before HBO. These preliminary results indicate that FDG-PET is useful for monitoring the effect of HBO for ARONJ. Histopathological observations on the specimens obtained from the HBO-treated ARONJ demonstrated the focal convex of new bone formation with featuring the smooth boundary with pre-existing old bone (mini-modeling).

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

BS-2 顎骨再建に求められる生体材料の性質：機械的耐久性と骨誘導能

○埜 隆夫^{1,2}¹医科歯科大 生材研, ²神戸大 未来医工

顎骨再建のうち、生体材料による硬組織再建には、工業用純チタン（CP Ti）製プレートとスクリュー、ハイドロキシアパタイト（HA）製人工骨、三リン酸カルシウム（TCP）製骨補填材などが使用される。最近では高強度のエンジニアリングプラスチックであるポリエーテルエーテルケトン（PEEK）の使用も試みられている。

材料はその分子結合や結晶構造に依存して機械的性質や加工性が決まるため、これらを大幅に改善することは難しい。そのため、大きな荷重が架かる箇所やねじ止めする箇所では破壊靱性値の大きい金属材料の使用が必須となる。特にCP TiやTi合金は金属材料の中では組織適合性が高く、広く利用されている。比較的小さな骨欠損であればHAやTCPによる骨補填・骨誘導が有効であるが、これらの適用には大きさの限界がある。インプラントのフィクスチャー部分にジルコニアの使用が広がっているが、破壊靱性値はCP Tiの約1/10であり、生体不活性な材料であるため骨組織との結合が難しい。PEEKは組織と接着しないために組織との間に空隙が形成され感染症の原因となることが知られている。そのため、ジルコニアやPEEK表面の組織接着性を向上させる表面処理が研究されている。

CP Tiを構成する結晶は最密六方晶であるため、金属材料の中では破断伸びが比較的小さく（JIS2種で23%）材料であり、Ti合金ではさらに破断伸びが小さい（Ti-6Al-4V合金で15-20%）。そのため、使用前に変形させる際に最大変形箇所が破断伸び以上に变形すると、亀裂が発生し破壊につながる。また、変形に失敗し元に戻して再度変形させると、加工硬化によって破断伸びが減少し破壊の原因となる。

材料には必ず長所と短所があり、長所のみで短所のない材料は存在しない。そのため、その使用目的に応じて適切に材料を選択することが肝要である。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Properties of biomaterials used for maxillofacial reconstruction: Mechanical durability and bone induction performance

○Hanawa T^{1,2}¹Inst Biomater Bioeng, Tokyo Med Dent Univ, ²Cent Adv Med Eng Res Dev, Kobe Univ

In maxillofacial reconstruction, especially hard tissue reconstruction with biomaterials, plates and screws made of commercially pure titanium (CP Ti), artificial bone of hydroxyapatite (HA), bone prosthetic materials of tricalcium phosphate (TCP), etc. are used. Near recently, polyetheretherketone (PEEK) as engineering plastics is also tried. It is difficult to improve drastically the mechanical property and workability of materials because their mechanical properties depend on their molecular bonding and crystal structure. Therefore, the use of metals that have large fracture toughness is essential under a large load and at screw-clamped sites. In particular, CP Ti and Ti alloys with good tissue compatibility among metals are widely used. In the case of relatively small bone defects, bone filling and induction with HA and TCP are effective, while application dimension is limited. Zirconia is used as fixtures of dental implants, while the fracture toughness is only 1/10 that of CP Ti. In addition, it is difficult to bond to bone tissue because zirconia is categorized as a bioinert material. As widely known, PEEK is not adhere to tissues, generating void between PEEK and tissues, followed by inducing inflectional disease. Therefore, surface treatments to improve tissue adhesion of zirconia and PEEK are researched. Materials always have both advantage and disadvantage; no material shows only advantage without any disadvantage. Therefore, it is important to select the most proper material according to the purpose.

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

BS-3 3次元組織構築を基盤とした骨再生医療技術

○星 和人

東大 院医 口腔顎顔面外科

再生医療は、*in vitro*での細胞培養技術を活用して、失われた組織の形態や機能の回復を図る医療である。現代の分子生物学的手法や最新の工学的技術を積極的に導入することにより、従来にはない革新的な治療法が生み出されると期待されている。30年ほど前に足場素材、細胞、成長因子により組織再生を実現するティッシュ・エンジニアリングの概念がハーバード大のグループにより提唱され、足場素材の組成や構造を工夫することにより、任意の形状や機能を有する組織を製造できる可能性が示された。その後、3Dプリンタの開発と導入により、さらに精緻で複雑な構造体を製造することが可能となり、3次元組織構築技術を基盤とした再生医療には、ますます高い期待が寄せられている。

一方、口腔・顎・顔面領域は、限られた領域の中に複雑な形態や機能を有する組織や臓器が密集しているため、炎症、外傷や腫瘍術後、先天奇形などで組織欠損を生じた場合、3次元構造を再現する移植体で、機能的且つ審美的に再建することが求められる。近年、口腔・顎・顔面外科分野においては、3次元形態を有する再生骨組織を用いた治療法の導入が積極的に進められている。

本講演では、チタンメッシュトレーに自家腸骨海綿骨を併用した方法や、東大工学部鄭教授が開発されたカスタムメイド人工骨（CT-Bone）などを、実際に臨床導入されている骨再生医療の実例として供覧し、研究開発過程や、臨床導入の実際、産業化への道筋を紹介する。さらに、様々な足場素材と3次元プリンター技術を用いるティッシュエンジニアリング型再生医療組織の展開、iPS細胞の導入、などといった今後の再生医療の展望について述べる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Bone regenerative medicine using 3D tissue fabrication

○Hoshi K

Oral and Maxillofac surg, Grad Sch Med, The Univ of Tokyo

Regenerative medicine is a medical technique that recovers impaired tissues and organs by making use of *in vitro* cell culture system. Thirty years ago, Harvard's group proposed the concept of tissue engineering that realizes reproduction of tissues by three components of cells, growth factors and scaffolds. This concept suggested that if the compositions and structures of scaffolds could be arbitrarily chosen, tissue engineering enabled to produce all tissues and organs with various shapes and functions. In addition, 3D printers have been recently developed, which have lead to increase the reproducibility in structure of engineered tissues. Thus, the regenerative medicine based on the 3D printer is highly expected. Otherwise, oral and maxillofacial area is so small that many tissues and organs with complicated structures and functions are confined within in. Once inflammation, trauma, tumor, or congenital anomaly causes even a small tissue defect in the oral and maxillofacial area, functional and esthetic reconstruction highly mimicking such a complicated 3D structure is needed. In this talk, I will provide the recent findings regarding clinical application of bone regeneration using 3D fabrication and perspectives of tissue engineering using novel scaffolds and 3D printers, and innovative cell sources of iPS cells.

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

BS-4 リン酸オクタカルシウム・コラーゲン複合体の組織学的評価と臨床応用

○高橋 哲¹, 松井 桂子¹, 鎌倉 慎治², 川井 忠³, 鈴木 治⁴

¹東北大学 歯 顎顔面・口外, ²東北大学 医工学 骨再生医工, ³岩手医大 歯 口外, ⁴東北大学 歯 顎口腔機能創建

リン酸オクタカルシウム (Octacalcium phosphate: OCP) は生体アパタイトの前駆物質で、実際に生体内のエナメル、象牙質、骨での OCP の存在が確認されている。合成 OCP を用いたわれわれの研究から、合成 OCP が優れた生体内吸収性と骨再生能を示すこと、骨芽細胞の分化を促進すること、人工合成が可能なこと、またその骨再生能力は同じリン酸カルシウム製剤の β -tricalcium phosphate や Hydroxyapatite を凌駕することを *in vitro* および *in vivo* の研究において確認した。またこの OCP 特徴として本材料はこれまでの骨補填材と違い、骨誘導能を持つ材料であることがわかってきた。すなわち骨増生に必須である血管新生を促し、骨芽細胞のみならず骨細胞の分化も誘導する。我々はさらに医療用コラーゲンと複合化させたリン酸オクタカルシウム・コラーゲン複合体(OCP/Col)を開発し、2015年より東北大学を主幹施設とした治験での臨床試験を進め、2019年に厚生労働省より製造販売承認を取得し、Bonarc[®]として製品化に成功した。Bonarc[®]はこれまで骨補填材のみでは不可能とされてきた大規模な骨欠損にも応用できる可能性を秘めている。本講演では、これまでの *in vitro* および *in vivo* の基礎的な研究、臨床応用に向けた translational research について特に組織学的な評価を中心にお話しするとともに、臨床応用として臨床研究および全国規模の治験についての成績を示し、Bonarc[®]の今後の顎骨・歯槽骨の再建への応用について俯瞰する。

【利益相反】なし

Histological evaluation and clinical application of octacalcium phosphate and collagen composite

○Takahashi T¹, Matsui K¹, Kamakura S², Kawai T³, Suzuki O⁴

¹Div Oral Maxillofac Surg, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ²Div Regen Biomed Eng, Tohoku Univ Grad Sch Medical Eng, ³Div Oral Maxillofac Surg, Iwate Med Univ Sch Dent, ⁴Div Craniofac Funct Bioeng, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Octacalcium phosphate (OCP) is a precursor of biological apatite crystal in bone and tooth. In fact, OCP was identified in enamel, dentin, or bone. Our previous studies demonstrated that synthetic OCP showed an excellent bone regeneration, biodegradation, osteoblast activation *in vitro* and *in vivo*. OCP has higher solubility and bone regeneration capacity than beta tricalcium phosphate (beta TCP) or hydroxyapatite (HA). Furthermore, our recent study suggested that OCP has osteoinductivity as well as osteoconductivity. OCP could promote angiogenesis which is essential for bone regeneration and activate osteocyte as well as osteoblast. We further developed Octacalcium and collagen composite (OCP/Col). In 2015, we started the clinical trial of OCP/Col in the use of oral and maxillofacial surgery all over Japan including Tohoku University and other institutes. In 2019, OCP/Col received the approval of Ministry of Health, Labor, and Welfare of Japan, and was named as Bonarc[®]. This material seems to have a potential for the use of large defect of jaw bone. In this lecture, we will present the histological and histomorphometric evaluation in the series of basic researches concerning OCP and OCP/Col both *in vivo* and *in vitro*. Furthermore, we will demonstrate the clinical application in the field of oral and maxillofacial surgery based on the clinical trial performed all over Japan. Finally, we will prospect the future use of Bonarc[®] on reconstruction of jaw bones.

Conflict of Interest: none

BS-5 RANKL 結合ペプチドを用いた顎骨造成

○青木 和広¹, 松本 芳郎², Masud Khan¹, 長弘 茂樹³, 岩本 勉³, 小野 卓史², 田村 幸彦⁴

¹医科歯科大 院医歯 口腔基礎工, ²医科歯科大 院医歯 咬合機能, ³医科歯科大 院医歯 小児歯・障害, ⁴医科歯科大 院医歯 硬組織薬理

我々は、単独では骨造成しない少量の bone morphogenetic protein (BMP)-2 と receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) 結合ペプチドとを組み合わせた骨造成方法を開発してきた。新生骨を誘導した場合に、母骨との結合状態が問題になるが、本シンポジウムでは、まだ基礎実験の段階であるが、この骨造成法により誘導した新生骨と顎骨との結合状態を骨形態計測学的に検討したのでご報告したい。

8 週齢雄性 C57BL/6J マウス 27 匹を用いた。一部のマウスは上顎第一臼歯近心粘膜下に RANKL 結合ペプチドである OP3-4 と BMP-2 を粒子状担体に含浸させ、粘膜下に注入することにより、骨形成を誘導した。in vivo μ CT を用いて経時的に新生骨を観察すると、注入 8 週間まで徐々に骨密度 (BMD) が増加した。非脱灰切片を用いて骨形成活性を計測したところ、骨造成材料の注入により、骨造成部近隣の上顎骨骨密度および、骨形成率 (BFR) の増加を認めた。また、矯正用アンカースクリューの応用を目指した基礎実験として、注入 4 週間後、骨造成部位にスクリューを植立したが、スクリュー近傍骨の骨密度、あるいは骨形成率には影響を与えなかった。これらの結果は、RANKL 結合ペプチドを用いた顎骨造成の有用性と骨造成部への矯正用アンカースクリューが可能であることを示唆するものである。

【利益相反】 利益相反はありません。

Jaw osteogenesis using RANKL binding peptide

○Aoki K¹, Matsumoto Y², Khan M¹, Nagahiro S³, Iwamoto T³, Ono T², Tamura Y⁴

¹Dept Basic Oral Health Eng, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Dept Orthodont Sci, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, ³Dept Pediatr Dent, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁴Dept Pharmacol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

We have developed an osteogenic method by combining a small amount of bone morphogenetic protein (BMP)-2 and receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) binding peptide. In this symposium, we would like to report the results of the bone morphometric study on the bond between the jawbone and the new bone induced by this osteogenic method, although it is still in the basic experiment stage.

Twenty-seven 8-week-old male C57BL/6J mice were used in this study. Some mice were injected submucosally with RANKL-binding peptides, OP3-4 and BMP-2, impregnated in a particulate carrier under the proximal mucosa of maxillary first molars to induce osteogenesis. In vivo μ CT revealed the increase of bone mineral density (BMD) until eight weeks after injection. The osteogenic activity was measured using undecalcified sections, and injection of osteogenic material increased maxillary BMD and bone formation rate (BFR) in the vicinity of the osteogenic area. In addition, as a basic experiment for the application of orthodontic anchor screws, screws were implanted in the osteogenic site after four weeks of injection, but the BMD and BFR of the bone near the screw were not affected.

These results suggest the usefulness of jaw osteogenesis using RANKL-binding peptide and the possibility of orthodontic anchor screws in the osteogenic site induced by the RANKL-binding peptide.

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

BS-6 材料の骨誘導能に関する骨形態計測学的評価

○田中 伸哉

埼玉医大 整形外科

骨は加齢変化を受ける臓器のひとつであり、加齢に伴う骨の量的および質的な変化は高齢者の脆弱性骨折や歯槽骨の退行の原因となり、食を始めとした日常生活動作（ADL）の低下を招く。この病態が骨の加齢変化に起因していることから、ビスホスホネートや抗 RANKL 抗体による骨新陳代謝の抑制が病期進行の抑制に必要である。しかし、骨新陳代謝の旺盛な顎骨や歯槽骨では骨髄炎を遷延させ顎骨壊死の原因となる。

骨髄炎の治療では腐骨の除去が必要になるが、ADLにおいて最も重要な咀嚼機能の喪失を意味する。可及的すみやかに欠損した顎骨の骨補填をおこなう必要があり、方法としては新たな骨新生による置換か補填材料による置換が考えられる。そして、これらの骨補填材料には、材料自体の強度と生体骨との高い親和性が求められる。

組織学的な見地から長期的な生体骨と親和性は、生体骨組織が骨補填材料内に侵入する in growth もしくは骨補填材料表面まで成長する on growth を観察することで予測できる。つまり、破骨細胞が補填材料内に侵入し骨芽細胞の骨形成が観察できれば in growth、骨芽細胞による骨形成が補填材料周囲に観察できれば on growth である。そして、骨補填材料の骨親和性の高さは補填材料内へ侵入した破骨細胞の程度や補填材料内もしくはその表面における骨形成の程度を数値化することで比較することができる。

骨形態計測法はそれぞれの顎骨の修復において欠損部位における骨新生もしくは補填材料の骨親和性を評価するうえで有用であり、もちいられる用語や観察方法の統一が期待される。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Evaluating the bone affinities of implanted materials by bone histomorphometry

○Tanaka S

Dept Orthopaed Surg, Saitama Med Univ

Bone is one of the organs that undergoes age-related changes, and that can cause fragility fractures or alveolar bone regression in the elderly. Bone fragility often leads to a decline in activities of daily living (ADL), including eating. Since aging is the most important pathogenesis of osteoporosis, it is necessary to prevent bone loss by suppressing metabolism with either bisphosphonates or anti-RANKL antibodies, but in the jawbone and alveolar bone, where bone metabolism is vigorous, osteomyelitis can be prolonged, causing osteonecrosis of the jaw.

The treatment of osteomyelitis requires the removal of decayed bone, which means the loss of masticatory function, the most important aspect of ADL. The missing jawbone needs to be replaced as soon as possible, either by new bone regeneration or by using a replacement material. And, those materials are required to be tough and to have high affinity with the recipient bone.

Long-term high affinity to recipient bone can be predicted by observing in-growth, in which biological bone tissue invades the implanted material, or on-growth, in which bone grows to the surface. And, in growth means that osteoclasts invade the material and osteoblastic bone formation can be observed, while on growth means that when osteoblastic bone formation can be observed around the material. To evaluate the bone affinity of the materials, quantifying the osteoclastic materials absorption and osteoblastic bone formation should be required

Bone histomorphometry is useful for evaluating not only the osteogenesis but the bone affinity of implanted materials in the defect site in each jawbone repair, but the terminology used and the observation methods need to be standardized.

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

PL アスリートの歯科基礎医学

○花田 光司

元 貴乃花親方

現役時代は、歯のトラブルでとても苦勞しました。力士同士がぶつかる時の衝撃は約1トン前後だといわれています。そのため、歯茎が腫れ上がって痛みが出ることもありました。その頃に出会ったのが、全身の健康を歯と口からサポートして下さった歯科医師の先生です。先生に歯科治療をしていただくなかで、噛み合わせの重要性に気がつきました。噛み合わせを整えることで体のバランスも安定してきて、精神の軸、つまり心のバランスが取りやすくなったのです。また、体のバランスを整えるためには、下半身、特に足の裏を鍛えることも大切で、土踏まずを地面につけた状態で噛み合わせると心がすっと落ち着いてきます。こうした関係は目に見えない部分ですが、現在、神奈川歯科大学と共同でスポーツ歯科医学の分野から研究を進めています。

さらに、2001年の夏場所、右膝に大怪我をしましたが、復帰に向けて取り組んだのが“四股”です。本講演では、“四股”と体幹の関わりについて、分かりやすく話をしたいと思います。

新型コロナウイルスの影響によって屋内で過ごす機会も増えていますが、狭い場所でもできるのが“四股”の特長です。必要な道具は自分の体重だけなので負担が少なく、体を動かすことはストレス解消にもなります。普段の生活の中に“四股”の動きを取り入れていくことで、歯のように下半身と上半身の“噛み合わせ”を整えていただきたいと思います。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言いたします。

Oral Biology for Athletes

○Hanada K

When I was an active wrestler, I suffered a lot from dental problems. It is also believed that the impact of a Rikishi smashing into each other is approximately one ton, which can cause the gums to swell up and cause pain. It was at around that same time I had a chance to meet a dentist who supported my overall health through my teeth and mouth. During my dental treatment by the doctor, I realized the importance of my bite. By adjusting my bite, I was able to stabilize my body, which made it easier to balance my mental axis, or my mind. It is also important to strengthen the lower body, especially the soles of the feet, in order to balance the body. Engaging the feet with the treads on the ground will help calm the mind. Although these relationships are invisible to the naked eye, we are currently conducting research from the field of sports dentistry in collaboration with Kanagawa Dental University.

In addition, I suffered a serious injury to my right knee in the summer tournament of 2001, but I worked on “Shiko” for my recovery. “Shiko: 四股” is a ceremony in honor of “Rikishi, 力士: sumo wrestlers” raising and stepping on their feet. In this lecture, I would like to talk about the relationship between “Shiko” and the body core in an easy-to-understand manner.

Due to the new coronavirus infection, there are more and more people spending time indoors, but the advantage of the “Shiko” is that it can be practiced in small spaces. The only equipment needed is your own body weight, so there is a minimal workout, and the physical exercise is also a good stress reliever. I would like to recommend that you adjust the “bite and/or occlusion” of your lower and upper body like your teeth by incorporating “Shiko” exercises into your daily life.

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

US1-1 Secretory leukocyte peptidase inhibitor (SLPI) による口腔上皮がん由来 Ca9-22 細胞の移動能・浸潤能亢進機構

○三上 剛和¹, 早津 学¹, 水谷 祐輔²

¹新潟大 院医歯 顕微解剖, ²北大 IR

Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) は、白血球が生産するプロテアーゼから皮膚や粘膜を保護する因子として知られている。その一方で、近年、この SLPI が多くのがん細胞で発現し、その悪性化の一因となっていることが示唆されている。そこでわれわれの研究グループは、これまでに、SLPI を強発現するヒト口腔上皮がん Ca9-22 細胞を用いて SLPI 遺伝子を欠損させた Δ SLPI 細胞を樹立し、その表現型を解析することによって、SLPI の作用機序の解明を試みてきた。*in vitro* の二次元培養とヒト子宮筋腫組織を用いた三次元培養から、 Δ SLPI 細胞では、細胞移動能と浸潤能が抑制されることが明らかになった。さらに網羅的な遺伝子発現解析や生化学的な実験などから、SLPI によって細胞接着に関与するいくつかの遺伝子の発現が抑制されることが明らかになった。この SLPI による転写抑制は、標的遺伝子のプロモーター領域のメチル化を介して行われることが強く示唆された。この他に、各種顕微鏡法を用いた Ca9-22 細胞と Δ SLPI 細胞の比較から、デスモゾーム様の構造や糸状仮足、葉状仮足などの細胞微細構造の形態変化も明らかになった。本シンポジウムではこれらの研究結果の詳細について報告するとともに、Ca9-22 細胞以外のがん細胞における SLPI 作用機序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。

Mechanisms underlying secretory leukocyte peptidase inhibitor-induced cell migration and invasion in Ca9-22, an oral gingival carcinoma cell line

○ Mikami Y¹, Hayatsu M¹, Mizutani Y²

¹Div Microscop, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Hokkaido Univ IR

Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) is known as an important regulator of innate and adaptive immunity. SLPI also plays a role in the malignancy of cancer cells and is upregulated in various cancers. In this study, we investigated the effect of SLPI on the malignancy of cancer cells using the oral gingival carcinoma cell line Ca9-22 as a model. Our comparative analysis of invasive ability in a myoma tissue culture model revealed that control Ca9-22 cells invaded the myoma tissue, while SLPI-deleted Ca9-22 cells formed a thick cellular layer over the myoma tissue. In addition, SLPI inhibited the expression of some adhesion/cohesion-related genes via methylation of their promoter regions, which strongly suggests that they may play a key role in understanding the molecular mechanism of SLPI-induced cell migration/invasion. Furthermore, our study demonstrated the ability of SLPI to promote cell migration, mediated by the regulation of cellular microstructures, including dorsal ruffles, lamellipodia, and desmosomes. In this symposium, we introduce our study in detail and discuss the possibility that SLPI may also promote malignancy in other cancer cells.

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

US1-2 アンモニアが脳に与える影響～フローラとの関連性～

○照沼 美穂

新潟大 院医歯 口腔生化

血液中のアンモニア濃度が増加する高アンモニア血症は、救急で運ばれるてんかん患者や認知機能低下患者に見られる。アンモニアは体内でのアミノ酸の代謝の過程で産生されるほか、口腔内や腸内の細菌による食物中のタンパク質の分解でも産生される。ヒトにとって有毒であるアンモニアは、肝臓で無毒化されて体外に排泄されるが、老化や肝疾患によりアンモニア代謝不全が起きると、血液中のアンモニア濃度が増加し、脳機能に大きく影響する。現在、肝疾患患者では腸内フローラの改善が高アンモニア血症の予防や治療に効果的であると考えられており、臨床で実践されているところである。

我々は、高アンモニア血症が実際に脳内にどのような影響を与えているのかを調べるために、塩化アンモニウムを静脈投与した急性高アンモニア血症マウスと、肝臓に炎症を加えた肝疾患性高アンモニア血症マウスを作製し、脳内を観察した。その結果、アルツハイマー型認知症の原因物質の1つとされるアミロイド β の沈着とその前駆体であるアミロイド前駆体タンパク質の発現上昇を確認した。興味深いことに、アミロイド β は脳内で最も数の多い非神経細胞アストロサイト内に蓄積されていた。このメカニズムを解明するために、ラットの胎児から初代培養アストロサイトを単離し、アンモニアがアミロイド β を産生する仕組みを見いだすことができた。本シンポジウムでは、アンモニアが引き起こす新規のアルツハイマー病発症機構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。

Effect of ammonia on brain—relationship with microbiota—

○Terunuma M

Div Oral Biochem, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Hyperammonemia has been shown to be a key pathogenic feature of the neuropsychiatric disorder Hepatic encephalopathy (HE), which leads to an alteration in mental status, as well as various neurological dysfunctions, such as tremor, ataxia and seizure. Ammonia is a byproduct of cellular metabolism and deficient hepatic urea formation, urea cycle failure, and bacterial infection in the gut are the major causes of pathological accumulation of ammonia, which results in hyperammonemia. Oral bacteria have also been known to produce ammonia. Therefore, improvement of gut flora has been used to prevent and/or treat patients with liver diseases.

To understand the effect of hyperammonemia in brain function, we prepared two mouse models of hyperammonemia, acute hyperammonemia by intraperitoneal injection of NH_4Cl and thioacetamide (TAA)-induced HE. We found that amyloid beta ($A\beta$) and its precursor protein APP are highly produced in the hyperammonemic brain. Interestingly, $A\beta$ was accumulated in non-neuronal cell astrocytes, which are the major glial cells in the brain. We therefore prepared primary cultured astrocytes from rat embryo, and determined the novel mechanism of $A\beta$ production. This is the first evidence that ammonia induces the pathogenesis of AD by regulating astrocyte function.

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

US1-3 代謝と口腔疾患

○岩田 淳一

テキサス大 歯 ヒューストン校

食習慣の変化や運動不足により、肥満を伴う脂質異常が見られる人が多くなりました。脂質とは、主にコレステロールや中性脂肪のことを指し、健康診断でも検査される項目の一つです。コレステロールは、ホルモンやビタミンDなどの産生に不可欠な物質であるとともに、細胞膜の形成と機能に必須なので、本来、体にとっては必要不可欠なものです。また、近年の研究により、膜に局在するコレステロールは様々な細胞の機能と密接に関連していることも知られてきました。体は、必要なコレステロールをすべて体内で産生することができますが、食べ物からも摂取しています。近年、生活習慣病が大きく取り上げられていますが、食習慣を改善することが重要であることは皆さんもよくご存知ではないかと思います。一方で悪い食習慣による病気発症のメカニズムについては、未だによく分かっていないのが現状です。我々は、遺伝子改変マウスを用いて、組織コレステロール代謝の破綻がもたらす病態の解明に取り組んでいます。我々の研究を通して、正常なコレステロール量のコントロールが破綻することで、今までその関連性がよく分かっていなかった様々な疾患につながる機序が少しずつ明らかになってきました。今回の講演では、特に口腔疾患や頭頸部の先天性疾患とコレステロール代謝の関連について、最新の情報をお話したいと思います。将来的には、歯科領域疾患の新たな治療法の確立や予防につながるのではないかと期待しています。

【利益相反】なし

A potential link between oral diseases and metabolic issues

○Iwata J

Dept Diag Biomed Sci, Univ of Texas Health Sci Cent at Houston (UTHealth) Sch Dent

Cholesterol is an important structural lipid in cellular membranes to maintain membrane structural integrity and fluidity. Therefore, the proper amount of cellular cholesterol is crucial for a wide variety of biological processes. Genetic mutations related to cholesterol metabolism and high maternal cholesterol diets are associated with various craniofacial birth defects and diseases. However, it is still largely unknown how altered cholesterol metabolism plays a role in craniofacial development and diseases. Taking advantage of our animal models, we are trying to determine new roles of cholesterol and its related molecules. This talk will cover topics related to cholesterol metabolic disorders. Our findings will provide new insights into the role of cholesterol metabolism and lead to innovations in the prevention, diagnosis, and treatment of cholesterol-related disorders.

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

US1-4 自然免疫からみた IgG4 関連疾患の病態

○森山 雅文^{1,2}

¹九大 院歯 顎顔面腫瘍制御, ²九大 院歯 OBT 研究セ

IgG4 関連疾患は高 IgG4 血症や罹患臓器への IgG4 陽性形質細胞の浸潤と線維化を特徴とする全身性の疾患である。その病態形成には獲得免疫 (T や B 細胞) が関与していることが知られているが、最近では自然免疫の病原体センサーである Toll 様受容体 (TLR) もその発症に重要な役割を果たしていることが示唆されている。われわれの過去の研究でも、罹患臓器に TLR7⁺ CD163⁺ M2 マクロファージが優位に浸潤することを報告している。TLR7 はウイルス感染に対する生体防御機構として重要であるが、獲得免疫の誘導にも関与する。

われわれの最近の研究では、マウス自身の TLR7 を欠失させ、ヒト TLR7 強発現させたヒト TLR7 トランスジェニックマウス (*huTLR7-transgenic/mTlr7^{-/-}*) を作製したところ、特病変局所への著明なリンパ球浸潤と線維化および血清 IgG1 (ヒトの IgG4 に相当) の高値を認め、IgG4 関連疾患と表現型が類似することが明らかになった。しかし、TLR7 がどのように作用して、本疾患に類似するかはいまだ不明である。

本研究では、IgG4 関連疾患の線維化機構を明らかにすることを目的に TLR7 とその下流分子について検討を行った。

【利益相反】 なし

IgG4-related disease: the perspectives on innate immunity

○Moriyama M^{1,2}

¹ Sect Oral and Maxillofac Oncol, Div Maxillofac Diag and Surg Sci, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ

IgG4-related disease (IgG4-RD) is characterized by elevated serum IgG4 and marked infiltration of IgG4-positive plasma cells with fibrosis in multiple organs. Although the involvement of acquired immunity (T and B cells) in the pathogenesis of IgG4-RD is well established, Toll-like receptors (TLRs), which are important for innate immunity, has recently been shown to play a role in the initiation of IgG4-RD.

We reported the predominant infiltration of TLR7⁺ CD163⁺ M2 macrophages in affected organs from patients with IgG4-RD. Several studies have indicated that TLR7 is important not only for the activation of antiviral responses but also for the induction of adaptive immunity. Interestingly, our recent data confirmed that human *TLR7-transgenic/mouse Tlr7* deficient (*huTLR7-transgenic/mTlr7^{-/-}*) mice exhibit a phenotype similar to IgG4-RD patients. Specifically, lymphocytic infiltration and fibrosis in affected organs were significantly increased compared with wild-type mice. In addition, the serum concentrations of IgG1 (equivalent to human IgG4) were markedly increased following stimulation with a TLR7 agonist. However, why *huTLR7-transgenic/mTlr7^{-/-}* mice exhibit a phenotype similar to IgG4-RD patients remains unknown.

In this study, we investigated the downstream events of TLR7 signaling in *huTLR7-transgenic/mTlr7^{-/-}* mice and IgG4-RD patients to clarify the fibrotic mechanism contributing to IgG4-RD.

Conflict of Interest: The author declares that they have no conflict of interest.

US1-5 歯周組織で誘導される細胞死が歯周疾患および全身疾患に及ぼしうる影響

○津田 啓方

日大 歯 生化

私の学生時代、細胞死には物理的、化学的刺激による損傷によって引き起こされる制御されないネクローシスとプログラム制御されているアポトーシスの二種類の細胞死しかないということで勉強したものだが、現在では、プログラム制御されているネクローシス（ネクロトーシス）やパイロトーシス、ネトーシスをはじめ、多様な細胞死の存在が報告されている。その内のいくつかの細胞死では細胞膜の破綻とそれにつづく細胞内分子の細胞外放出が起こる。放出された damage-associated molecular patterns (DAMPs) と呼ばれる細胞内分子は他の生存細胞の受容体に作用し、それにより様々な細胞反応を示すことが知られている。また、DAMPs 以外にも細胞内の酵素や核酸、分泌前の exosomes などが放出されることにより、さらに多様な反応が引き起こされる可能性が考えられる。つまり、細胞膜の破綻を伴う細胞死は様々な細胞間シグナル伝達分子の発生源となっていると言える。歯周疾患と全身疾患のつながりを考える上では、この点に着目することも重要であると思われる。我々の研究グループでは、プラーク細菌の培養上清中に含まれる高濃度の短鎖脂肪酸が歯肉上皮細胞の細胞死を引き起こし、それに伴い様々な細胞内分子が細胞外に放出されることを発見した。また、この細胞死誘導には活性酸素の産生、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ活性が優勢であること、オートファジーの誘導が必要であることが解った。本演題では、我々のデータを紹介しながら、また、歯周組織周囲で起こりうる細胞死を考えながら、歯周組織の細胞死と歯周組織の反応および全身疾患との関係について考察していく。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

The considerative importance of periodontal cellular death on periodontal disease and medical disease

○Tsuda H

Dept Biochem, Nihon Univ Sch Dent

Now, it has been reported that there are not only necrosis and apoptosis but various types of cell death, such as necroptosis, pyroptosis, and NETosis. In some types of cellular death, which accompany cytoplasmic membrane disintegration, subsequently induce release of intracellular molecules. Released molecules that are called damage-associated molecular patterns (DAMPs) bind to their receptors of adjacent cells, sometimes to those of distant cells when the molecules are carried by bloodstreams, and the cells received these signals change their characters. In addition, released intracellular enzymes, nucleotides, exosomes, and so on, are also thought to induce further cellular reaction. These means that cellular death that accompanies cytoplasmic membrane disintegration may be a supply source of intracellular signaling molecules. This point of view is thought to be very important to consider the relationship between periodontal disease and medical disease. In this presentation, it will be discussed about the relationship between periodontal cellular death with periodontal disease and further with medical disease while introducing our data.

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

US2-1 歯の鑑別の新展開

○近藤信太郎¹, 大島 勇人²

¹日大松戸歯 解剖, ²新潟大 院医歯 硬組織形態

歯の鑑別は解剖学者や人類学者, 法歯学者にとってのみならず, 臨床家にも極めて重要である。形態学の基本的な知識だけでは歯を鑑別することが難しい場合がある。1本の歯にその歯種のすべての特徴が現れているとは限らないため, いわゆる「鑑識眼」が必要とされている。歯の鑑別は, 乳歯と永久歯の特徴 (set trait), 歯種の特徴 (class trait), 上下顎の特徴 (arch trait), 同一歯種内における順位の特徴 (type trait) (Kraus ら, 1992) と左右側の特徴 (主として湾曲徴, 隅角徴, 歯根徴) (藤田ら, 1995) を基に行われる。鑑別において, これらの特徴は必ずしも順序立てて区別されるとは限らないし, どの特徴が難しいかも鑑別する歯によって異なるため一概には決められない。下顎切歯部では順位, 左右側の特徴が現れにくいいため, 鑑別が難しいとされている (藤田ら, 1960) が, 往々にしてそれ以外の歯でも鑑別が難しい例に遭遇することが多々ある。左右差の鑑別において, 歯の鑑別を定量的・客観的に行う方法が報告されている (Murakami ら, 1977, 1981; Kondo ら, 1992; 堀川ら, 1995) が, 総括的に鑑別を行う方法はほとんど見当たらない。最近の人工知能 (AI) の研究発展により, 歯の鑑別を自動化できる可能性が出てきた。

本シンポジウムでは ①形態地図法による大臼歯の形態学的な研究から順位の鑑別を検討する, ②事象関連電位を用いた認知心理学的解析から歯の鑑別を検討する, ③ディープラーニングによる歯の画像における鑑別を検討する, 最後に④人工知能による歯科医療の未来を総括的に語っていただく4つの講演により構成した。歯の鑑別の将来についての新展開を紹介し, 歯の鑑別について活発な議論を交わしたい。

【利益相反】なし

New perspective of tooth identification

○Kondo S¹, Ohshima H²

¹Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ² Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

The tooth identification is of paramount importance not only for anatomist, anthropologist and forensic odontologist, but also for dental practitioner. It may be difficult to identify teeth with only basic knowledge of morphology. A so-called "discriminating eye" is needed, since all characteristics not always appear in a tooth. Tooth identification is constructed as following four traits: to distinguish deciduous from permanent teeth (set trait), distinguish tooth classes (class trait), distinguish maxillary from mandibular teeth (arch trait), and distinguish every tooth within a tooth class (type trait) (Kraus et al., 1992), followed by the discrimination between right and left sides (curvature, angularity, and root features) (Fujita et al., 1995). Recent advances in artificial intelligence (AI) research have increased the potential for automating tooth identification.

This symposium is composed of (1) a morphological study by morphometric mapping to analyze type traits, (2) tooth identification examined by cognitive psychological analysis using event-related potentials, (3) tooth images identified by deep learning, and (4) comprehensive discussion about the future of dental sciences with AI. We would like to introduce new perspective in the future of tooth identification.

Conflict of Interest: No

US2-2 形態地図法による大臼歯の鑑別

○森田 航¹, 森本 直記²

¹科博 人類, ²京大 院理 自然人類

歯種の同定は、歯に関わるあらゆる分野の研究者に共通の基本技術である。特に進化を考える上では、系統関係の推定や種の分類のために、研究対象となる歯がどの歯なのか（歯種 tooth class, 並びに、その中での順位 tooth type）を同定できることは極めて重要である。歯科の教育においても、形態的特徴に基づく歯種鑑別の重要性は論をまたない。しかし、形態の個体間変異も多いため、教科書に記述された特徴がすべての歯に当てはまるとは限らず、経験的なものにならざるを得ない。質的な特徴の記述は重要ではあるけれども、根拠となる数値的な裏付けが必要である。

我々は歯冠の3次元形態を定量的に扱える形態地図法を用いている。形態地図法は、線形計測などでは表現できない歯冠の複雑な形状を複数の形態パラメータを用いることで視覚化・定量化する。形質間の相同性を問わない手法であるため、遠心の歯において特定の咬頭が失われやすいヒトの大臼歯の分類にも適用することが可能である。2000年代以降、計算技術の発達に伴って、機械学習や深層学習といった人工知能を用いたパターン認識や分類の方法が台頭している。人間の介在しないシステムを経由することで、3次元形状の分類を客観的に遂行できると共に、反省的に歯種の鑑別に重要な感覚的な特徴を再認識することができると考えられる。本発表ではヒトの上顎大臼歯を対象に、形態地図法による定量化と人工知能の応用による歯種の鑑別について紹介する。

【利益相反】 無し。

Identification of human molars with morphometric mapping

○Morita W¹, Morimoto N²

¹Dept Anthropol, Natl Mus Nat Sci, ² Lab Phys Anthropol, Grad Sch Sci, Kyoto Univ

The identification of individual tooth is a fundamental skill for all researchers whose work involves teeth. In particular, it is vital to identify dental specimens targeted on the study (tooth class and type within it) to infer phylogenetic relationship and classification of species in the field of evolutionary biology. Similarly, the identification of teeth is highly relevant to the primary education of dentistry. The characteristics described in standard textbooks, however, do not necessarily apply to all teeth due to considerable inter-individual variation in morphology. Although the qualitative description of dental traits is practical, it should be corroborated quantitatively.

Here, we introduce morphometric mapping to quantify and visualize three-dimensional tooth crown morphology using multiple morphological parameters. Since the 2000s, the rise of artificial intelligence, including machine learning and deep learning, accelerates automated pattern recognition and classification. Such human-free algorithms provide us objective classification of 3D shapes and make us recognize crucial characters for tooth identification in a reflective manner. This presentation combines morphometric mapping with artificial intelligence to classify human maxillary molars and discuss their efficiency.

Conflict of Interest: Nothing to declare.

US2-3 歯の鑑別について事象関連電位 (ERP) を用いた認知心理学的解析

○青木伸一郎, 伊藤 孝訓

日大松戸歯 口腔診断

歯科医師は、学習した歯の特徴に関する基本的知識に加えて、臨床で退化や一部欠損した歯に遭遇し得た経験的な知識を用いて、脳内でパターン認知し歯種鑑別を行っている。課題の情報処理に対する評価指標は、従来から正答率や反応時間が多く用いられている。近年では、脳活動により発生する磁場を計測する脳磁図(MEG: Magnetoencephalography)や血流動態を計測するfMRI (functional magnetic resonance imaging), 脳の電気活動を計測する脳波(EEG:Electroencephalogram)などにより、脳活動を多面的に計測できるようになってきた。私たちの研究グループは、以前より脳波の中でも、比較的簡便で臨床でも計測しやすいとされている事象関連電位(ERP: Event-Related Potentials)に注目している。ERPのなかでもP300は注意、検索、記憶などの心理的要因によって変化することが知られている。このP300の潜時や振幅、P300を含めたERP波形成分の出現パターンを指標として、歯種鑑別時の脳の情報処理過程について検討を行っている。本シンポジウムでは、歯の解剖学の講義を受講した直後で、教科書的な知識のみを所有している歯科学学生(初学者)と教科書的な知識と臨床体験により様々な状態を理解した経験的知識を持ち合わせた歯科学学生(熟達者)について、歯種鑑別時の情報処理過程の熟達について、認知心理学的手法を用いて検討した結果を報告する。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Cognitive psychological analysis using event-related potential (ERP) for tooth differentiation

○Aoki S, Ito T

Dept Oral Diag, Nihon Univ Sch Dent at Mastudo

Dentists use empirical knowledge gained from clinical degeneration and defects, as well as learned dental characteristics, to differentiate teeth. In the evaluation index for information processing, correct answer rate and reaction time are mainly used. In recent years, it has become possible to measure brain activity using magnetoencephalography (MEG), which measures magnetic fields generated by brain activity; functional magnetic resonance imaging (fMRI), which measures hemodynamics; and electroencephalography (EEG), which measures brain electrical activity. Our research group has been paying more attention to event-related potentials (ERPs), which are said to be relatively simple and easy to measure in clinical situations. In ERP, P 300 is known to vary depending on psychological factors such as attention, search, and memory. Using the latency and amplitude of P 300 and the appearance pattern of ERP waveform components including P 300 as indices, the information processing process of the brain at the time of tooth species identification is examined. In this symposium, we report on the results of a cognitive psychological study of dental students (beginners) who have only textbook knowledge and dental students (experts) who have experiential knowledge and understand various conditions through textbook knowledge and clinical experience.

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

US2-4 ディープラーニングを用いた歯の鑑別

○五十嵐由里子¹, 近藤信太郎¹, 内木場文男², 金子 美泉², 粟飯原 萌²

¹日大松戸歯 解剖, ²日大 理工 精密機械工

AIの中核をなすテクニックである機械学習のうち、神経回路網を模した学習モデルであるニューラルネットワークを用いる機械学習をディープラーニング (DL) という。DLは画像認識に威力を発揮するため、歯科分野でもDLを用いた画像診断が盛んになってきた。ただし従来のDLを用いた歯種鑑別研究においては、歯列全体を鑑別対象としており、遊離歯を対象とした研究はなされていない。DLを用いて遊離歯を鑑別するシステムを構築できれば、法歯学 (大規模災害時) や骨考古学 (遺跡発掘調査) の分野で威力を発揮することが期待できる。そこで我々はDLを用いた遊離歯の歯種鑑別の研究を開始し、基礎研究として、DLによる2つの実験を行った。実験1では、形態の大きく異なる下顎左側の中切歯と第一大臼歯の鑑別を行い、実験2では下顎小白歯 (左側第一・第二小白歯, 右側第一・第二小白歯) の鑑別を行った。

実験1では学習率0.01で学習が成功し、下顎左側中切歯も下顎左側大臼歯いずれも一致率が100%となり、歯種を正確に鑑別することができた。実験2では、学習率0.01で学習が失敗したため、学習率0.001としたところ、学習は成功した。しかし一致率はいずれも100%を下回った。下顎第一小白歯においては、歯種そのものは高精度で鑑別できたが左右の鑑別の精度が低かった。下顎左側第二小白歯は、下顎左側第一小白歯と誤判定する傾向が認められた。なお、実験2のモデルの適正性は、トレーニングデータを用いたテストによって確かめられた。

歯種により鑑別の精度が異なる理由は、歯の形態、トレーニングデータの種類や個数や質によるものと考えられる。本シンポジウムでは、2つの実験結果を紹介し、歯種鑑別の精度を向上させるための方策について考察を行う。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Application of a deep learning artificial intelligence system for individual tooth identification

○Igarashi Y¹, Kondo S¹, Uchikoba F², Kaneko M², Aibara M²

¹Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ²Col Sci and Eng, Dept Prec Machine Eng, Nihon Univ

Since Deep Learning (DL) is very effective in image recognition, diagnostic imaging using DL has become popular in the field of dentistry. In previous studies, however, the tooth identification was performed only on the teeth in the dental arch. The identification of individual teeth using DL has not yet been attempted. If a system for identifying individual teeth will be constructed using DL, it could be useful in the fields of forensic dentistry and osteoarcheology. Therefore, we started research on the identification of individual teeth using DL, conducted two experiments using DL. In Experiment 1, the mandibular left central incisor and the mandibular left first molar, which greatly differ in morphology, were identified, in Experiment 2, the mandibular premolars were identified.

The lower left central incisors and molars could be classified with 100% accuracy with a model trained using 0.01 as the learning rate. For the lower premolars, the 0.01 learning rate model failed to classify the images, and the accuracy was below 100% even for a 0.001 learning rate model. The adequacy of the model itself was confirmed. To improve the model, we should consider the kind and the number of training data.

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

US2-5 人工知能による歯科医療の未来

○常木 雅之^{1,2}

¹メドメイン株式会社, ²新潟大 院医歯 硬組織形態

人工知能 (artificial intelligence: AI) の第3次ブームの中で, 医療における期待が大きい. 医用画像を対象とするコンピュータ支援診断 (computer-aided diagnosis: CAD) は AI との親和性が高く, 特に放射線画像診断領域において商用化成功例もみられるようになった. 近年の CAD における深層学習 (Deep Learning) の影響力は凄まじく, CAD システムの開発工数が従来型の CAD に比べて容易となり, 同時にビッグデータが開発の肝となっている.

歯学領域における AI の開発状況は, 放射線診断領域が主体となっているが, 歯の形態推論や顎骨・軟組織の形状抽出などにも応用可能である.

われわれは, Deep Learning を主体とする Computer Vision (CV) を専門として医用画像の認識・推論を研究開発している. 現在は医用画像の中で病理画像 (組織・細胞画像) の Deep Learning により消化器や呼吸器系 (PMID: 33875703, 33854137, 32518413, 32001752) の腫瘍性病変の CAD モデルを開発してきた. また, 医用画像への転移学習 (Transfer Learning) の適応可能性に関する基礎的研究を展開しており, 事前学習させた重みを効率的に利用することで新規のモデルを高速に開発することが可能になってきている (<https://openreview.net/forum?id=TjwDWRdfZpg>).

歯科医療は「疾患 (病態)」「機能」「審美」という要素が複雑に交差した治療システムであるために画像診断は不可欠である. 一口腔単位に対する診断・治療を可能にする複数の AI モデルを集合連結させた統合的システムの研究開発が必要である.

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する.

Future perspectives of artificial intelligence (AI) in dental medicine

○Tsuneki M^{1,2}

¹Medmain Inc., ²Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

In the third technology boom, the artificial intelligence (AI) has great promise in clinical medicine. Computer-aided diagnosis (CAD) for medical images has a high affinity with AI; there have been successful commercialization(s), especially in radiological imaging. In recent years, the application of Deep Learning has been providing significant impacts in CAD, which has reduced the R&D manhours as compared to traditional one. At the same time, big data is playing a key role in development.

The development status of AI in dental medicine is mainly in the area of radiological diagnosis; however, it can also be applied to morphological inference of teeth and pattern-recognition & shape-extraction of jaw bone and soft tissue.

We are focusing on the pattern-recognition and inference of medical images in computer vision. Recently, we have developed deep learning models of neoplastic lesions in the digestive and respiratory systems on pathological images. We are also investigating the application of transfer learning to medical images, and it is becoming possible to develop new models rapidly by using pre-trained weights efficiently.

Since clinical dentistry consists of “disease”, “function”, and “aesthetics”, diagnostic imaging is indispensable. It is necessary to investigate integrated system(s) linking multiple AI models for diagnosis and treatment.

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

US3-1 リン酸オクタカルシウムを用いた骨再生

○鈴木 治, 塩飽由香利, 濱井 瞭
東北大 院歯 顎口腔機能創建

リン酸八カルシウム (OCP, $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) は, 骨アパタイト結晶の前駆体と考えられてきた物質である. 私達はベンチスケールにおける合成方法を確立し, ハイドロキシアパタイト (HA) との比較で OCP の高い骨伝導性を見出し (Tohoku J Exp Med 164:37, 1991), OCP を基材として用いる骨補填材を開発してきた. 近年, OCP と collagen との複合体が東北大学での臨床研究, 引き続いて行われた企業主導治験を経て口腔インプラント治療を前提とした骨補填材として認可された. OCP は生理的 pH 下では準安定相であり, Ca 欠損型の HA (Ca-deficient HA) に相転移する傾向がある. OCP は HA に相転移する際に Ca^{2+} および無機リン酸イオンの出入りと血清由来タンパク質の吸着を生じ, 骨形成に促進的に作用する (Biomaterials 27:2671, 2006 他). 骨形成に関わるいくつかの細胞に OCP が及ぼす影響を HA との比較で調べたところ, 以下のことがわかった. 1) OCP はマウス骨髄由来間葉系幹細胞 (D1 細胞) スフェロイドとのハイブリットにおいて骨芽細胞分化を促進する (Acta Biomater 88:477, 2019); 2) マウス骨髄由来間葉系幹細胞 (IDG-SW3 細胞) の骨細胞分化を促進する (Acta Biomater 69:362, 2018); 3) ラット頭蓋冠臨界径骨欠損の再生において, OCP 表面近傍から離れた位置にある新生骨基質内の骨細胞の初期分化を促進する (Acta Biomater 2021). シンポジウムではこれまで開発してきた OCP 骨補填材の性質と OCP 自体が有する細胞の骨分化能について紹介したい.

【利益相反】 著者は本発表に関する研究に関し利益相反がないことを宣言する.

Bone regeneration by OCP-based bone substitute materials

○Suzuki O, Shiwaku Y, Hamai R

Div Craniofac Funct Eng, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Octacalcium phosphate (OCP, $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) has been advocated as a precursor to bone apatite crystals. We succeeded preparing bench scale OCP batches and found first its higher osteoconductivity than hydroxyapatite (HA) materials (Tohoku J Exp Med 164:37, 1991). Since then we have been developing OCP-based bone substitute materials, including OCP composite with collagen recently approved for the use with implantation of the dental implant, after the clinical research in Tohoku University and then a company-initiative clinical trial. Some of properties of OCP we found so far are: 1) OCP enhances bone formation during its structural conversion into Ca-deficient HA with inorganic ions incorporation and release (Biomaterials 27:2671, 2006); 2) OCP enhances osteoblastic cell differentiation from mouse bone marrow derived mesenchymal stem D1 cells and osteocyte differentiation of IDG-SW3 cells in vitro (Acta Biomater 88: 477, 2019; *ibid.* 69: 362, 2018); 3) OCP works as a stimulator for early osteocyte differentiation in the bone matrix from a distance through its chemically-related properties (Acta Biomater 2021). The properties of OCP-based bone substitute materials and the material function on the cellular activities will be discussed.

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

US3-2 ヒト I 型コラーゲン様リコンビナントペプチドを用いた骨補填材の開発

○宮治 裕史

北大 院歯 歯周歯内

歯周組織再生には、骨（歯周組織）再生かつ吸収性に優れた生体材料の使用が望まれる。ヒト I 型コラーゲン様リコンビナントペプチド（RCP）は、RGD 配列のリピート構造を有する 1 本鎖のコラーゲン様人工材料で、高い細胞接着性を示し、生体吸収性も良好である。また、RCP は酵母菌によって産生されることから、従来の天然 I 型コラーゲンを使用した生体材料と比較して、動物由来成分を含まない利点がある。RCP は天然コラーゲンと同様に、架橋することで様々な形態に加工することができる。今回は歯周組織再生をターゲットとした骨補填材の創製を目的として、RCP をスポンジ状に熱架橋、フリーズドライ後に粒径約 1 mm に粉碎した顆粒状 RCP を用意し、使用直前にサブミクロンサイズ（粒径約 0.7 μm ）の β -TCP 水分散液を加え、RCP 顆粒を膨潤させて埋植に用いた。

本材料は骨芽細胞に対する良好な細胞親和性、細胞増殖促進効果を示したほか、骨形成マーカーである Runx2, ALP, BSP, 接着因子である ITGB1 の発現を有意に促進した。また、ラットの骨欠損に埋植した場合において良好な骨形成促進効果を示した。一般に強い骨伝導材料を歯周組織再生に用いた場合、欠損に面する歯根と移植材料の間で骨性癒着が生じるケースや、歯根膜やセメント質を伴うペリオドンタルアタッチメントを再構築できないケースがある。しかし本材料をビーグル犬の実験的歯周組織欠損モデルに埋植した結果、骨伝導が達成されるとともに、歯根表面と本材料間の軟組織には POSTN の発現を強く認め、骨性癒着も認めなかったことから、ペリオドンタルアタッチメントの再構築が達成される可能性が示された。本材料の歯周組織再生材料としての利用が期待される。

【利益相反】 著者は利益相反が無いことを宣言する。

Development of bone graft material using recombinant peptide based on human collagen type I

○Miyaji H

Dept Periodontol Endodont, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Periodontal regenerative therapy requires bone graft material with periodontal tissue reconstructive activity and well-biodegradability. Recently, recombinant peptide based on human collagen type I (RCP) was developed as collagen-like artificial single-chain equipping many RGD sequences. Like natural collagen, RCP can be processed into various forms by cross-linking. In this study, granulated RCP (1 mm particle size) was prepared by thermally cross-linking. Before implantation, submicron-sized (0.7 μm particle size) β -TCP aqueous dispersion was added to RCP to swell the freeze-dried granules.

The RCP granules promoted the expression of cell differentiation markers such as Runx2, ALP, BSP and ITGB1, and then bone forming effect in rat bone defect. In addition, RCP granules implantation allowed POSTIN expression on the root surface, as well as alveolar bone reconstruction, in dog periodontal bone defect model, suggesting that RCP granules would promote the periodontal attachment reconstruction.

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

US3-3 新規リン酸化多糖体“リン酸化プルラン”を用いた骨再生

○長谷川智香¹, 森本 康仁^{1,2}, 久保田恵亮^{1,3}, 本郷 裕美¹, 吉田 靖弘⁴, 網塚 憲生¹

¹北大 院歯 硬組織発生, ²北大 院歯 歯周歯内, ³北大 院歯 口腔機能補綴, ⁴北大 院歯 生体材料

骨再生の場では、良好な治療成績を求めて様々な骨補填材の開発が進んでいる。新規リン酸化多糖体であるリン酸化プルランは、多量のリン酸基を有するグルコースからなる多糖体であり、リン酸残基への各種イオンや基質蛋白の吸着が推測され、骨再生の足場として有益に機能する可能性が考えられる。演者らが、骨欠損モデルやインプラント埋入モデルを用いてリン酸化プルランによる骨再生を組織学的に検討したところ、リン酸化プルランは、内部に血管内皮細胞や骨芽細胞などの細胞を侵入させるとともに、オステオポンチンやDMP1などの骨基質蛋白やリン・カルシウム元素を沈着させ、骨芽細胞による新生骨形成を生じさせていた。その際、リン酸化プルラン表面から内部に向かってリン酸カルシウム結晶が針状に形成されること、また、リン酸化プルラン上に形成された新生骨は、骨欠損部やインプラント周囲で長期にわたって維持されていることが明らかとなり、リン酸化プルランが骨再生に良好な微細環境を提供することが示唆された。また、リン酸化プルランを β -TCPと混和して用いた場合にも、それぞれを足場とした新生骨形成が誘導されており、かつ、これら新生骨の連結性を維持していたことから、異なる骨補填材とのコンビネーションマテリアルとしても有効活用が可能であることが推測された。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。

【利益相反】 筆者は利益相反がないことを宣言する。

Bone regeneration by using the novel phosphorylated polysaccharide “Phosphorylated pullulan”

○Hasegawa T¹, Morimoto Y^{1,2}, Kubota K^{1,3}, Hongo H¹, Yoshida Y⁴, Amizuka N⁴

¹Dept Deve Biol Hard Tissue, ²Dept Periodontol Endodont, ³Dept Oral Funct Prosthodont, ⁴Dept Biomater Bioengin, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

To obtain the preferable bone regeneration, several bone substitutes and biomaterials have been developed. Phosphorylated pullulan (PPL) is a novel polysaccharide with abundant phosphate residues, therefore providing the possibility that various ions and matrix proteins accumulate in the phosphate residues. In our studies employing the bone defect and implantation models, ALP-positive osteoblasts were localized on the grafted PPL and directly formed new bones on the PPL. In addition, the grafted PPL allowed the invasion of vascular endothelial cells and osteoblastic cells inside, and showed non-collagenous bone proteins and calcium phosphate deposition on the superficial layer. The newly formed bone on the grafted PPL formed the continuum with the surround pre-existing bone and the implants. When grafted with the combined materials with PPL and β -TCP, new bones were induced on the both β -TCP granules and PPL. Therefore, the combined components with PPL and TCP could effectively serve as an adequate scaffold for bone regeneration. In this symposium, we will show our recent histochemical findings about bone regeneration by phosphorylated pullulan.

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

US3-4 コラーゲン／アパタイト配向性に基づく再生骨の骨質評価

○石本 卓也, 中野 貴由

阪大 院工 マテリアル生産科学

骨組織は主に、いずれも異方的な力学特性を示すコラーゲン線維と生体アパタイトナノ結晶からなり、これらが骨中で特定の方向に優先配向した、配向化複合材料である。この配向性、すなわち優先配向方向や配向度合は骨の種類や同一骨中においてもその部位によって異なり、骨部位毎に配向化構造を変化させることで骨は最適な機能を発揮している[1]。実際、アパタイトの優先配向度が、骨密度よりもはるかに大きな寄与で骨のヤング率を決定することを、我々は再生骨[2]や種々の疾患骨[3,4]を用いた解析により明らかにしている。さらに、通常の骨再生においては骨基質配向性が正常化し、結果として力学特性が回復するのに長期間を要する。早期の力学機能回復のためには、積極的に配向化を促進する骨再建手法の確立が不可欠と言える。本講演では、著者らがこれまで材料工学の立場から微小領域 X 線回折法や複屈折顕微鏡法を駆使しつつ明らかとしてきた骨中のアパタイト／コラーゲン配向性分布と骨力学機能との相関、その知見に基づき、健全な配向性と機能の早期回復を目指した骨再建法について、インプラントデバイスにも関連付けながら紹介させていただく。

[1] T. Nakano et al.: Bone 31, 479-487 (2002); [2] T. Ishimoto, T. Nakano et al.: J. Bone Miner. Res. 28, 1170-1179 (2013); [3] T. Ishimoto, T. Nakano et al.: Bone 103, 216-223 (2013); [4] R. Ozasa, T. Ishimoto, T. Nakano et al.: Calcif. Tissue Int 104, 449-460 (2019).

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Evaluation of bone quality in regenerated bones using preferential orientation of collagen/apatite

○Ishimoto T, Nakano T

Div Mater Manuf Sci, Osaka Univ Grad Sch Eng

Bone is a natural composite material with anisotropic hierarchical structure predominantly consisting of collagen fibrils and apatite crystals, where the *c*-axes of the apatite co-aligns with the long axis of the collagen fibrils. This anisotropic micro-organization is responsible for anisotropic mechanical functions of bone [1]. We have proven that the apatite orientation is a pivotal determinant of bone mechanical functions using regenerating [2] and diseased bones [3,4]. In a normal bone healing, it takes long time for the bone matrix orientation to be normalized and, as a result, the mechanical properties to be restored. Therefore, the establishment of a bone reconstruction method that actively promotes matrix orientation is indispensable for the early recovery of mechanical function. In this presentation, we introduce the collagen/apatite orientation in the regenerated bones and a bone reconstruction method aiming at rapid recovery of anisotropic microstructures and functions of bone.

[1] T. Nakano et al.: Bone 31, 479-487 (2002); [2] T. Ishimoto, T. Nakano et al.: J. Bone Miner. Res. 28, 1170-1179 (2013); [3] T. Ishimoto, T. Nakano et al.: Bone 103, 216-223 (2013); [4] R. Ozasa, T. Ishimoto, T. Nakano et al.: Calcif. Tissue Int 104, 449-460 (2019).

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

US4-1 口腔扁平上皮癌における「腫瘍実質-間質連関」による細胞増殖制御機構の解明

○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関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。私共は口腔扁平上皮癌において、腫瘍実質と間質の相互作用「腫瘍実質-間質連関」が腫瘍形成、特に細胞増殖に影響を与えると考え、その分子基盤を明らかにしてきた。臨床的に、腫瘍が形成されると腫瘍間質に硬結、“硬さ”を触れる。本シンポジウムでは、“硬さ”に着目した「腫瘍実質-間質連関」に関する、二つの私共の最近の知見について紹介したい。

① “硬さ”を口腔扁平上皮癌において高発現する機械受容器として機能するCaチャンネル; Transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4)が感知し、CaMKII/AKTの活性化を介して細胞増殖を促進すること、

② “硬さ”により口腔扁平上皮癌において活性化したYAPシグナルがCaチャンネル; Piezo-type mechanosensitive ion channel component 1 (PIEZO1)の発現上昇を介して細胞増殖を促進すること、を見出した。これらの結果から、口腔癌において「腫瘍実質-間質連関」により、Caチャンネルを介したシグナル伝達が異常に活性化していることが明らかとなった。

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。

Analysis of “tumor parenchymal and stromal association” in oral cancer cell proliferation

○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.

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.

Inactivation of the Hippo pathway, which responds to the extracellular environment, with nuclear translocation of YAP/TAZ leads to stimulate cell proliferation and regulates gene expression. However, the precise molecule mediating the cell-proliferating effect of YAP signaling on OSCC is unclear. We identified PIEZO1, a Ca^{2+} channel, as a transcriptional target of YAP signaling and showed that an elevated PIEZO1 expression was required for PIEZO1 agonist-dependent Ca^{2+} entry and cell proliferation in OSCC cells.

These results revealed that “tumor parenchymal and stromal association” promotes OSCC tumor cell growth.

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

US4-2 がん細胞の老化細胞様変化による新たな機能の獲得とその分子機構

○常松 貴明, 石丸 直澄

徳大 院医歯薬 口腔分子病態

死細胞は主にマクロファージや樹状細胞などのプロフェッショナルな貪食細胞によって貪食され、除去されることが一般に古くから知られている。一方、がんの病理組織検体では非プロフェッショナルな細胞であるはずのがん細胞による貪食像が認められることが知られている。興味深いことに、このがん細胞による貪食像は特に頭頸部癌や乳癌の病理学的に高悪性度の組織型（類基底扁平上皮癌、唾液腺導管癌やトリプルネガティブ乳癌）や悪性黒色腫で高頻度に観察されることが報告されており、担がん患者の予後に寄与する因子と考えられるが、その生物学的意義や分子機構はほとんど明らかにされていない。そこで、我々は頭頸部癌細胞株を用いて、*in vitro* で癌細胞による死細胞の貪食を定量的に評価できる実験系を構築し、制御因子の探索を行ったところ、ノックダウンすることで癌細胞による死細胞の貪食を顕著に増加させる分子を同定した。予想外に、同分子のノックダウンは不完全な老化細胞様の表現型を示すとともに、死細胞の認識に関与する分子群の発現上昇を伴っており、癌細胞の性質自体を大きく変化させたと考えられた。これらの結果から、外的もしくは内的因子によって引き起こされる DNA 損傷応答の一つの表現型として老化細胞様がん細胞が誘導されることが、癌組織における死細胞の除去に重要な役割を果た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。

The acquired novel role of cancer cells via senescence-like state and its molecular mechanism

○Tsunematsu T, Ishimaru N

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

It is well known that dead cells are removed by professional phagocytes such as Macrophage and Dendritic cells. Whereas the engulfment of dead cells by cancer cells, which can be non-professional phagocytes, is frequently observed in high grade tumors, especially head and neck cancers, Breast cancers (Basaloid squamous cell carcinoma, Salivary duct carcinoma, Triple-negative cancer) and Malignant melanomas. However, their biological significance and molecular mechanism largely haven't been understood. Therefore, we established the quantitative *in vitro* experiment for evaluation of dead cells engulfment and explored for its regulators. Interestingly, we identified novel factor which its knockdown significantly promoted dead cells engulfment. Unexpectedly, its knockdown induced incomplete cellular senescence and also upregulated the expression of recognition molecules for dead cells. Overall, our results suggested that the induced senescence-like cancer cells could have the important role for removing dead cells in cancer tissues.

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

US4-3 がん微小環境ネットワークを制御するシグナルを標的とした治療法の開発

○渡部 徹郎

医科歯科大 院医歯 病態生化

腫瘍組織はがん細胞だけでなく、腫瘍血管や炎症性細胞、がん関連線維芽細胞(CAF)など様々な因子で構成されている。腫瘍の形成を促進するCAFの一部は内皮間葉移行(EndoMT)によって腫瘍血管内皮細胞から形成することがわかっている。そのため、EndoMTを制御する分子機構を解明することは、CAFの形成を標的とした新規がん治療法の開発において有用であると考えられる。EndoMTはTGF- β によって誘導されるが、その機序には未解明な部分が多く残されている。我々は、炎症性サイトカインであるTNF- α が、TGF- β によるEndoMTの誘導を亢進することが明らかとした。さらに、TGF- β とTNF- α の共刺激によって誘導されるEndoMTの過程で内皮細胞自身からTGF- β 2が産生されるようになり、下流のSmad2/3シグナルが亢進することで不可逆的にEndoMTを進行させていることを見出した。また、さらに、EndoMTを誘導した内皮細胞から分泌されるTGF- β 2が、口腔扁平上皮がん細胞において上皮間葉移行(EMT)を誘導することが明らかにした。以上の結果から、がん微小環境においてEndoMTにより形成されるCAFから分泌されるTGF- β が、がん微小環境ネットワークを制御し、腫瘍の進展に寄与することが示唆された。本シンポジウムにおいては、このTGF- β シグナルを標的とした新規治療方法の開発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。

Development of novel therapeutic strategies targeting tumor microenvironment network signals

○Watabe T

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

The tumor microenvironment (TME) consists of various components including cancer cells, tumor vessels, cancer-associated fibroblasts (CAFs). These components interact with each other via various cytokines, which often induce tumor progression. Thus, a greater understanding of TME networks is crucial for the development of novel cancer therapies. Many cancer types express high levels of TGF- β , which induces EndMT of blood vascular endothelial cells (BECs), leading to formation of CAFs. Although we previously reported that CAFs derived from EndMT promoted tumor formation, the molecular mechanisms underlying these interactions remain to be elucidated. Human umbilical aortic endothelial cells (HUAECs) underwent EndMT in response to TGF- β . In addition, treatment of ECs with TGF- β exhibited sustained activation of Smad2/3 signals, which was presumably induced by elevated expression of TGF- β 2 and Activin A, suggesting that TGF- β induces EndMT by augmenting TGF- β family signals. Furthermore, oral cancer cells underwent epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in response to humoral factors produced by TGF- β -cultured ECs. This EndMT-driven EMT was blocked by inhibiting the action of TGF- β s. Collectively, our findings suggest that TGF- β induces EndMT of both BECs and LECs, which contributes to progression of various diseases.

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

US4-4 がんの悪性化における腫瘍血管の役割

○間石 奈湖, 樋田 京子

北大 院菌 血管生物分子病理

腫瘍血管はがんに栄養や酸素を供給するなど組織を養うばかりではなく、がんの転移の経路の供給、さらには免疫細胞のがん組織への動員においても重要な役割を担っている。腫瘍血管の内側を裏打ちしている腫瘍血管内皮細胞は、血管新生阻害療法の標的として極めて重要であるが、近年では、正常血管内皮細胞と比べて様々な異常性を示すことが明らかになっている。われわれはこれまで、低酸素刺激やがん細胞由来のサイトカイン、細胞外小胞などががんの微小環境の違いにより腫瘍血管内皮細胞に多様性がもたらされることを報告しているが、最近では、抗がん剤治療によるがん微小環境の変化が、腫瘍血管内皮細胞に薬剤排出ポンプ ABC トランスポーターの発現亢進を介した薬剤耐性を誘導することを見出した。さらに、腫瘍血管内皮細胞の一部には、細胞走化性因子としても働く angiocrine factor を多く分泌するものがあり、その一つである Biglycan はがん細胞の浸潤能を亢進させ、血管内侵入、さらには肺転移を誘導することも報告した。また Biglycan ノックアウトマウスにおいて、腫瘍血管正常化、抗がん剤送達性の向上、免疫細胞のがん組織内への動員が改善されたことから、腫瘍血管は単に血液を運搬するだけではなく、がんの悪性化にも関与していることが示唆された。がんの薬物治療の成否には腫瘍血管の生物像についての理解が重要である。本講演では、がんの悪性化における腫瘍血管内皮細胞の役割について、最近の知見を紹介したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

The role of tumor blood vessels in tumor progression

○Maishi N, Hida K

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

Tumor blood vessels play important roles for tumors to supply nutrient, oxygen and the route for metastasis and immune cell mobilization. Tumor endothelial cells (TECs), lining tumor blood vessels, are important targets in cancer therapy. Recently, TECs are reported to show abnormal phenotypes. We have shown that TECs are heterogeneous population which are induced by tumor microenvironmental factors. Drug resistance is also induced in TECs via upregulation of ABCB1 expression by chemotherapy-induced factors. Furthermore, TECs contribute to metastasis by secreting angiocrine factors, such as biglycan, which stimulates tumor cell intravasation and metastasis. Biglycan knockout mouse tumor showed more CD8 cells, suggesting tumor immunity is activated by biglycan inhibition. Targeting such abnormal TECs could show the anti-tumor effects in the mouse model. We would like to introduce TEC abnormalities related to cancer progression to provide insight into new anticancer therapies.

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

US4-5 癌促進性エクソソームとその機能抑制

○江口 傑徳

岡大 院医歯薬 歯科薬理

エクソソームは、細胞から分泌される直径 30 nm~150 nm の細胞外小胞である。エクソソームに搭載される様々な分子種 (タンパク質, RNA, DNA, 脂質など) は、エクソソーム受容細胞へとトランスファーされた後、その機能を発揮する例が知られる。癌においては、エクソソーム依存性分子トランスファーが、微小環境の悪性化や、転移ニッチ形成を促進するとの報告がある。近年、我々は、高転移性癌細胞に由来するエクソソームにおいて MMP3 および HSP90 が高発現していることを見出し、siRNA や CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術による遺伝子ノックアウトの手法を用いて、エクソソーム機能解析および新規治療戦略の開発を進めている。MMP3 高発現エクソソームが *in vitro* / *in vivo* 腫瘍形成を促進したのに対し、MMP3 欠失エクソソームではその機能が抑制されていた。MMP3 を欠失させることで、大腸癌細胞の Tumoroid (三次元培養腫瘍) 形成能が低下して、*In vitro* 腫瘍内に壊死を認め、CD9, CD63, Ki-67 の発現およびエクソソームの分子トランスファー能が軒並み低下した。このように脆弱化した MMP3 欠失 Tumoroid に、MMP3 高発現エクソソームを加えると、Tumoroid 形成および Ki-67 発現が回復した。以上より、エクソソーム依存性腫瘍進展における MMP3 の役割が明らかとなった。HSP90 については、上記と同様のエクソソーム機能促進性に加えて、口腔癌において腫瘍随伴マクロファージ (TAM) を M2 型へと極性化させることが判明している。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Cancer-promoting exosomes and their functional suppression

○Eguchi T

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

Exosomes are extracellular vesicles secreted by cells with a diameter of 30 nm to 150 nm. Various molecular species (proteins, RNA, etc.) loaded in/on exosomes exert their functions after being transferred to exosome-receiving cells. Exosome-dependent molecular transfer promotes malignant transformation of the microenvironment and metastatic niche formation in cancer. Recently, we have found that MMP3 and HSP90 are highly expressed in exosomes derived from metastatic cancer cells and developed exosome function analysis and new therapeutic strategies using siRNA and CRISPR/Cas9-based genome editing technology. MMP3-highly expressed exosomes promoted *in vitro* / *in vivo* tumorigenesis, whereas MMP3 deficiency suppressed the pro-tumorigenic function of exosomes. Deletion of MMP3 reduced the ability of colorectal cancer cells to form three-dimensional cultured tumors called as "Tumoroids" and induced necrosis in tumoroids. MMP3 knockout triggered the reduction of CD9, CD63, and the molecular transferability of exosomes. The addition of MMP3-highly expressed exosomes to the vulnerable MMP3-deficient tumoroid restored tumoroid formation activity and Ki-67 expression. Taken together, we demonstrated that MMP3 plays the crucial roles in exosome-dependent tumor progression. Regarding HSP90, in addition to the same exosome-promoting property as described above, HSP90-rich exosomes polarized tumor-associated macrophages to M2 type in oral cancer.

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

US5-1 イントロダクション：最新研究から考える口腔機能ダイバーシティ

○小野堅太郎¹, 加藤 隆史²

¹九歯大 生理, ²阪大 院歯 口腔生理

近年の生理学研究における実験技術の進歩は、旧来の学問領域の垣根を取り払いつつある。立て続けに続く学術雑誌の創刊や膨大な科学論文数の増加により、かつては数冊の専門分野に近い学術誌で事足りた研究動向のフォローが、ウェブ検索なしで把握できなくなっている。このような状況下で、「口腔機能」に関する研究には、脳を含めた全身機能や疾患・病態研究といった非常に多様性に富むという特徴があることから、従来とは異なる新たな研究体系を構築できる可能性を秘めている。

本シンポジウムの目的は、最新研究から「口腔機能」の歴史と現状を知り、今後の口腔機能研究の歩む道を再考する機会を設けることである。初めにオーガナイザーからシンポジウムの意図を紹介し、その後4名のシンポジストに登壇いただく。初めに、昭和大学の井上富雄教授より「日本における口腔機能研究の歴史」についてお話を頂き、現在に至るこの分野の道のりを若手研究者と共有する。そして、バックグラウンドが異なる4名のシンポジストに登壇いただく。大阪大学の吉田 篤教授は神経解剖学の視点から、新潟大学の井上 誠教授は摂食嚥下リハビリテーションの臨床の視点から、北海道大学の乾 賢准教授は歯科医師とは異なる基礎研究者の視点から、九州歯科大学の中富千尋助教は若手の研究者の視点から、自らの最新研究の紹介とともに、将来の口腔機能研究への期待を述べていただく。総合討論ではシンポジウム参加者とともに、口腔機能研究の未来像や研究の方向性を議論したい。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Introduction : Diversity of oral physiology research

○Ono K¹, Kato T²

¹Div Physiol, Kyushu Dent Univ, ²Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

The recent developments of experimental technology are breaking down the barriers between traditional research fields. The rapid increase of scientific papers makes it more complicated and difficult to keep track of research trends without digital and internet technology. Under these circumstances, the research on “oral functions” has potential in creating new research concepts based on a great diversity of research topics and styles. The purpose of this symposium is to revisit the diversity of “oral physiology research” with historical and future perspectives proposed by the four speakers.

At the beginning, Professor Tomio Inoue will talk about “The history of oral physiology in Japan” to share with young researchers. Professor Atsushi Yoshida will talk about neuroanatomical research, which is essential for functional research. Professor Makoto Inoue will talk about swallowing research from a clinical point of view. Associate Professor Tadashi Inui will talk about taste research as a non-dental basic scientist. Assistant Professor Chihiro Nakatomi will talk about oral tactile research as a young researcher. In the general discussion, we would like to explore the future of “oral physiology research” with the participants.

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

US5-2 口腔機能研究—多様性の融合と昇華—

○井上 富雄

昭大 歯 口腔生理

口腔生理学を初めて学問として体系化したのは大阪大学の河村洋二郎で、「新編口腔生理学」(1956)において、口腔生理学で扱う対象を「歯、咀嚼、口腔感覚、味覚、唾液、発声」とした。河村は口腔機能のダイバーシティを良く理解し、門下生ごとに異なる研究テーマを与え、個々の研究の philosophy を重視して口腔機能に関する多様な研究を遂行した。河村はそれらの研究成果をもとに口腔生理学全体を俯瞰し、口腔生理学の重要性をわかりやすく広く社会に伝え、黎明期の口腔生理学の発展に貢献した。その後、時代とともに口腔生理学を含めて自然科学は細分化し、研究対象に対して高度で専門的な知識や技能が求められるようになった。このため、自分の専門領域以外には良く知らない研究者が多数生まれ、一つの研究室が多様な研究テーマを扱うことは困難になった。このことは、自らの研究領域をひたすら守って安住する研究室のタコソボ化をもたらしがちになり、画期的な新たな研究の展開が起きにくい状況を生んでいる。この状況を打開するために、細分化された知を統合して異なる研究領域を俯瞰し、研究領域を超えた共同研究の実施とともに、社会にその成果を発信することが提唱されている。本シンポジウムでは、多彩な演者の先生方の研究の philosophy を理解するとともに、多様な口腔機能のさまざまな研究成果について、より一層の強い興味を持って相互に理解したい。これにより研究領域を超えた共同研究のアイデアが自然発生的に生まれる場になるとともに社会への発信を考える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。

Integration and transfiguration of researches on diverse oral function

○Inoue T

Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent

Professor Yoshiro Kawamura at Osaka University published “Shinpen Koku Seirigaku” and offered tooth, mastication, oral sensation, taste, saliva and speech as research topics of Oral Physiology in 1956. He recognized the diversity of oral functions and his disciples performed a number of researches on those topics under his supervision with emphasis on good philosophies of research. He had excellent perspectives on Oral Physiology based on results of those researches and explained those topics to people in ways easy to understand, which contributed to the early development of Oral Physiology. Today, research topics of science including Oral Physiology have been subdivided into many small fields with scientific progress. Highly specialized knowledge and techniques regarding a specific research field are needed to perform good experiments on the research field. This makes it extremely difficult for researchers to understand research topics outside his/her field. I hope in this session that participants will try to knuckle down to gain a thorough understanding of the topics presented by the speakers, which may inspire them collaborative projects beyond their research fields. I also hope that this session may provide an opportunity to think the importance of offering information of our researches to society.

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

US5-3 神経解剖学および電気生理学から明らかとなった咀嚼筋筋紡錘感覚の脳内経路とその機能

○吉田 篤¹, 佐藤 文彦¹, 堤 友美¹, 古田 貴寛¹, 橘 吉寿²

¹阪大 院歯 口腔解剖 2, ²神戸大 院医 生理

【背景と目的】末梢感覚を伝達する脳内経路の解明には、神経トレーサーの脳内注入を用いた神経解剖学的方法と、末梢または中枢の刺激に対する応答を中枢または末梢から記録する電気生理学的方法が用いられる。我々は両者の利点を活かして咀嚼筋筋紡錘感覚の脳内経路とその機能の解明をラットで試みた。【結果と考察】(1) 三叉神経中脳路核 (Me5) ニューロンは咀嚼筋筋紡錘感覚を伝達した。(2) Paxinos and Watson の三叉神経上核 (Su5) の位置は誤っていた。(3) Su5 には、口腔顔面感覚の中で咀嚼筋筋紡錘感覚のみが Me5 ニューロン経路で入力した。(4) Su5 は、全身の深部感覚の入力部と考えられている視床の後腹側核背外側部ではなく、後内側腹側核の尾腹内側縁 (VPMcvm) に投射した。(5) Su5 は、視床の髄板内核群の oval paracentral nucleus (OPC) にも投射し、咀嚼筋筋紡錘感覚を伝達した。(6) 前肢筋の筋紡錘感覚が、外側楔状束核経路で、視床の後外側腹側核の背外側部ではなく腹内側部 (VPLvm) に投射した。(7) VPMcvm と VPLvm の位置から、全身の深部感覚は視床の後腹側核の腹内側部に体部位局在性をもって伝達されることがわかった。(8) VPMcvm は、大脳皮質において、全身の深部感覚の入力部と言われている一次体性感覚野 3a 領域ではなく、顆粒性島皮質 (GI) の小領域 (dGIRvs2) に投射したことから、咀嚼筋筋紡錘感覚を伝達する主経路は、Su5-VPMcvm-dGIRvs2 路であることが示された。(9) OPC は、一次および二次体性感覚野と GI に投射し、この経路もまた咀嚼筋筋紡錘感覚を伝達した。(10) Su5 と dGIRvs2 は、脳内の感覚と運動、情動、自律神経機能に関わる脳部位と神経連絡があることも明らかとなった。

【利益相反】演者は利益相反がないことを宣言する。

Central projections of proprioception from masticatory muscle spindles demonstrated by a combination of morphological neuronal tract tracing and electrophysiological recording in rats

○Yoshida A¹, Sato F¹, Tsutsumi Y¹, Furuta T¹, Tachibana Y²

¹Dept Oral Anat Neurobiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, ²Dept Physiol Cell Biol, Kobe Univ Grad Sch Med

【Aim/Method】To demonstrate central pathways conveying proprioception from rat masticatory muscle spindles (JCMSs), we used a combination of neuroanatomical tract tracing and electrophysiological recordings of responses to stimulation. 【Results/Discussion】(1) Trigeminal mesencephalic neurons conveyed JCMSs only. (2) The supratrigeminal nucleus (Su5) was different from that described by Paxinos and Watson, and received the JCMS proprioception only. (3) JCMS proprioception was conveyed from the Su5 mainly to the ventromedial edge (VPMcvm) of ventral posteromedial thalamic nucleus and slightly to the oval paracentral thalamic nucleus (OPC). (4) The proprioception from forelimb muscle spindles was transported from the lateral cuneate nucleus to the ventromedial part of ventral posterolateral thalamic nucleus. The results (3) & (4) suggest that the proprioception from entire body muscle spindles is somatotopically conveyed to the caudoventral part of the ventroposterior thalamic nucleus. (5) JCMS proprioception was conveyed from the VPMcvm to a small part (dGIRvs2) of granular insular cortex (GI), and from the OPC to the primary and secondary somatosensory cortices and GI. (6) The Su5 and dGIRvs2 had connections with brain structures involved in the sensorimotor, emotional, and autonomic functions.

Conflict of Interest: None declared.

US5-4 歯科臨床からみた口腔生理学

○井上 誠

新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ

超高齢社会の到来により、歯科医療分野においても高齢者歯科、中でも摂食嚥下障害に注目が集まっている。加齢や種々の疾患が原因となる摂食嚥下障害は、低栄養や誤嚥性肺炎などの呼吸器疾患を招き、生命を脅かす問題となる。実際に近年の歯科医学教育、歯科医学研究、歯科臨床では、摂食嚥下障害が主要なテーマの一つとなっている。しかし、その臨床内容を顧みた時に、エビデンスに欠けるものが少なくないことに気づく。検査、診断、リハビリテーションを中心とする臨床体系は経験的なものが多く、十分な検証がないまま今日を迎えている。

摂食嚥下障害に関係する研究テーマの一つに病態解明を目的とした機能研究がある。脳血管疾患、パーキンソン病をはじめとする神経難病、慢性閉塞性呼吸器疾患などは主たる摂食嚥下障害の原因疾患となっているが、これらの疾患をきっかけとした摂食嚥下障害の病態像は決して明らかにされているわけではない。一方でリハビリテーションの内容に関しては、訓練によって機能回復を図る治療的アプローチ、潜在的な機能に働きかける代償法的アプローチ、周囲の協力を求める環境改善的アプローチ、心理的アプローチがある。近年、口腔機能、中でも咀嚼に働きかけることで、末梢機能だけでなく高次脳機能にも改善を求める試みが治療的アプローチとして報告されている。咀嚼を単なる口腔機能の一つと捉えるのではなく、生活全体に影響を与える運動となり得るとの期待があるが、これを基礎研究の視点でエビデンスとして示すのは容易ではない。

以上を踏まえて本発表では、これまで理解されてきた摂食嚥下障害の病態像に対する知見の整理に加えて、咀嚼運動をはじめとする口腔機能が臨床貢献にいかに関与しているかを示唆する研究結果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。

Oral physiology from the clinical point of view

○Inoue M

Div Dysphagia Rehabil, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

With aging of Japanese society, geriatric dentistry, particularly dysphagia, has been receiving attention throughout the country. Dysphagia caused by primary diseases and/or aging may lead to malnutrition and pulmonary diseases due to repeated tracheal aspiration of secretion or food bolus, and motility. Dysphagia and dysphagia rehabilitation have become one of the main subjects in dental education, dental research and clinical fields of dentistry. However, most clinical approaches have been developed based on clinical experiences and lack reliable evidence. Stroke is known to be the primary disease which may cause dysphagia. Clinician do not have any appropriate clinical examination to clarify swallowing pathophysiology and rely on videofluoroscopy or videoendoscopy to detect swallowing impairments. I will review the recent findings of dysphagic conditions caused by the primary diseases such as stroke and how the oral function may contribute to dysphagia rehabilitation in our clinical and basic researches.

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

US5-5 味の記憶は脳にどのように貯蔵されるのか：味覚嫌悪学習の中樞神経機序の解明

○乾 賢, 船橋 誠

北大 院歯 口腔生理

ヒトや動物は味の記憶を手がかりとして、栄養素の摂取と有害物質の回避を効率よく行う。したがって、味を記憶する能力は生命の維持に不可欠といえる。味の記憶が形成される一つの現象に味覚嫌悪学習がある。味覚嫌悪学習は食物摂取後に体調不良を経験することで成立し、味覚嗜好性の低下や摂取に対する不安・恐怖といった行動の変化をもたらす。我々は、これらの行動表出に関わる中樞神経機序を調べることによって、味覚記憶のメカニズムの解明を目指している。

これまでに、味覚嫌悪学習による嗜好性の低下に、脳内報酬系の一部である側坐核 core 部から腹側淡蒼球への GABA 性神経伝達に関与することを明らかにした。この側坐核 core 部へ密な神経投射を送る扁桃体基底外側核の神経活動を行動薬理的に不活性化すると、嗜好性低下や摂取に対する不安・恐怖が減弱した。また、扁桃体基底外側核から分界条床核や扁桃体中心核への神経投射も味覚嫌悪学習に関与することが示唆されている。

本発表では以上の知見を紹介した上で、現在取り組んでいる化学遺伝学的手法を用いた研究について報告する。マウスの扁桃体基底外側核ニューロンに DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs) を導入し、リガンドによって神経活動を制御したときの摂取行動や接近回避行動に及ぼす影響を調べることで、味覚嫌悪学習における扁桃体基底外側核の役割をより詳細に明らかにしようとしている。また、先行研究で味覚嫌悪学習への関与が示唆されている分界条床核や扁桃体中心核についても調べており、それらの結果についても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。

Taste memory storage in the brain: the central mechanisms of conditioned taste aversion

○Inui T, Funahashi M

Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Taste memory is crucial for humans and animals to discriminate nutrients from irritant substances. In particular, a potent experimental taste memory paradigm is conditioned taste aversion (CTA), wherein the taste of food is changed both from palatable to aversive and from attractive to hesitant. Herein, we investigated the brain mechanisms underlying these behavioral alterations to understand where and how taste memory is stored in the brain.

We have previously revealed that the GABAergic projection from the nucleus accumbens (NAc) core to the ventral pallidum mediates decreased palatability in CTA. Given that the NAc core receives dense projections from the basolateral amygdala (BLA), we showed the involvement of the BLA in the execution of aversive and hesitant behaviors to the taste. Moreover, these behaviors might be mediated by the bed nucleus of the stria terminalis (BNST) and central amygdala (CeA).

This presentation will introduce previous findings and discuss our recent chemogenetic studies to explore the functions of the BLA, BNST, and CeA in CTA. Currently, we are examining the effects of alterations in the neural activities of these brain regions by stimulating DREADD (designer receptors exclusively activated by designer drugs) on the aversive and hesitant behaviors in mice.

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

US5-6 おいしさのダイバーシティ—ラットを用いた食感研究へのチャレンジ—

○中富 千尋
九歯大 生理

我々は食品のおいしさを考える際に味や香りに注目しがちであるが、舌触りや歯ごたえといった「食感」にもおいしさを感じているのを忘れていないだろうか。たとえ味が同じでも、湿気た煎餅、のびたラーメンはおいしく感じない。おいしさとは、味、香り、食感といった多様な要素により形成されるにも関わらず、食感に関する研究はほとんどなされていない。これは、食品物性の認知を客観的に評価する動物実験系が確立されていないことが一因と考えられる。本演題では、我々が新たに確立したラット口腔内粘性認知解析法について概説する。試験食材には、一般的な増粘剤のカルボキシメチルセルロース (CMC) を使用し、二瓶選択法による嗜好性試験及び粘性嫌悪条件づけ試験を行った。ラット鼓索神経が CMC 溶液に応答を示したことから、CMC フレーバーの影響を排除するために、同濃度で粘度が異なる二種類の CMC (high-CMC, low-CMC) を利用した。さらに CMC フレーバーに対する安全学習を獲得させた条件下で粘性嫌悪条件づけ試験を行った。二瓶選択法では、ラットは 1% high-CMC 溶液 (63 mPa·S) に対して嫌悪を示した。条件づけ試験においては、8 日間 0.1% low-CMC に前暴露させた条件下で、ラットは 0.1% high-CMC 溶液 (4.5 mPa·S) に対する嫌悪条件づけを獲得した。しかし、0.1% high-CMC に前暴露させた場合は、0.1% high-CMC 溶液に対する嫌悪条件づけは獲得されなかった。以上から、ラットが 4.5 mPa·S の粘度を識別していることが明らかとなった。本研究で用いた解析法は、弾性、粒子性といった他の物性認知の評価にも応用できるだけでなく、それぞれの物性を受容する機械受容器の解析に利用できる。食感研究を発展させることにより、味覚、嗅覚、そして触覚といった多様な観点からの「おいしい」のメカニズム解明に寄与すると考えられる。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

Diversity in deliciousness: The new method to evaluate oral viscosity discrimination in rats

○Nakatomi C

Div Physiol, Kyushu Dent Univ

Food textures provide important information on food quality, preference, and edibility. However, little is known about physiological mechanisms of oral textural perception in mammals. Because flavors in textured foods complicate analysis of oral texture discrimination in rodents. In this study, we conducted preference tests and conditioned viscosity avoidance tests for carboxymethyl cellulose (CMC) solutions in rats to evaluate oral viscosity discrimination. To exclude flavor effects, two types of CMC (high or low-viscosity CMC) with a same flavor were used as the test solutions, and familiarization with a CMC-flavor was acquired in rats before aversion conditioning. In preference tests, rats spontaneously avoided CMC-H solutions above 1% (63 mPa·s), but did not avoid CMC-L with the same concentrations. After 8 days preexposure to CMC-H (4.5 mPa·s), rats failed to acquire conditioned avoidance to CMC-H, whereas rats preexposed to CMC-L (1.4 mPa·s) acquired it. Using these methods, we revealed that rats discriminated the viscosity above 2.8 mPa·S. The established conditioned avoidance tests for viscosity in rats will be available to investigate mechanisms of texture perception in mammals.

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

US6-1 The study on the production of acetaldehyde from ethanol by oral bacteria – Effects of oral environmental factors and ethanol concentration –

○Tagaino R^{1,2}, Washio J¹, Sasaki K², Takahashi N¹

¹Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ²Div Adv Prosthet Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

In recent years, it has gathered attention that acetaldehyde produced by oral bacteria from ethanol derived from alcohol beverages may increase the carcinogenic risk for oral cancer. Many studies have reported that the indigenous oral bacteria such as *Streptococcus*, *Neisseria* and *Prevotella* species produce acetaldehyde from ethanol. However, it is not well understood what environmental conditions are suitable for these bacteria to efficiently produce acetaldehyde. In general, the oral environment is always fluctuating greatly. Therefore, we examined the effects by various oral environmental factors (aerobic, anaerobic, and pH conditions) on the acetaldehyde production by oral bacteria (*Streptococcus* and *Neisseria* species). These bacteria efficiently produced acetaldehyde from ethanol at neutral to slightly alkaline pH under aerobic conditions. These results suggested that acetaldehyde is produced more in saliva, in thin biofilm and on the surface of oral biofilms. In other words, even in a healthy oral cavity, risk factors for oral cancer may always be present.

On the other hand, another important biological effect of ethanol is its role as an antiseptic/disinfectant. These bifacial effects are expected to antagonize the acetaldehyde production of bacteria at any concentration. In other words, increasing the concentration of alcohol in the oral cavity may increase acetaldehyde production by oral bacteria, while high concentration of alcohol may kill bacteria or suppress their metabolic activities. However, the boundary between the two was not very clear. Therefore, we attempted to explore the boundary by evaluating the acetaldehyde production, growth, and survival abilities under a wide range of ethanol concentrations. Under high concentrations of ethanol, the bacteria did not seem viable but continued to produce small amounts of acetaldehyde. On the other hand, moderate concentrations, assumed during drinking alcohol beverage, did not have sufficient antiseptic/disinfectant effects, and a large amount of acetaldehyde was produced. The boundary between these bifacial effects was unclear and overlapped.

In conclusion, our results suggest that usual alcohol consumption leads to the acetaldehyde production by oral bacteria. Furthermore, our results suggest that for the correct assessment of the carcinogenic risk of oral biofilm, it is important not only to search for acetaldehyde producing bacteria in oral biofilms, but also to consider the environmental factors which affect their acetaldehyde productivity. We hope that our findings will contribute to the development of new strategies for the prevention of oral cancer.

References: Tagaino R *et al*, *Sci Rep* **9**: 10446, 2019; Tagaino R *et al*, *J Oral Microbiol* **13**: 1937884, 2021.

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

US6-2 Profiling of microbiota in various remaining drinks of plastic bottle after drinking directly from plastic bottles

○Kawachi M¹, Takahashi N¹, Kaku N¹, Higuchi M¹, Wakui A¹, Washio J², Takahashi N², Sato T¹

¹Div Clin Chem, Niigata Univ Grad Sch Health Sci, ²Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

It has been speculated that oral bacteria can be transferred to drinks in plastic bottles when it is drunk directly from the bottles, and that the bacteria can then multiply in the bottles. The transfer of oral bacteria to the mouth of bottles and bacterial survival in the remaining drinks after drinking directly from bottles were examined immediately after drinking and after storage at 37°C for 24 h.

After obtaining informed consent, 8 healthy subjects (14 to 23 years of age) were asked to drink approximately 100 mL of a sport-drink or orange juice from a plastic bottle. The mouths of the bottles were swabbed with sterile cotton. 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 remaining drinks in the bottles and 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 (Wakui *et al.*, 2021).

The mean amounts of bacteria were $(2.9 \pm 1.6) \times 10^3$ colony-forming units (CFU)/mL and $(1.6 \pm 2.2) \times 10^3$ CFU/mL from the remaining sport-drink and orange juice immediately after drinking, respectively. In contrast, $(6.0 \pm 3.5) \times 10^4$ CFU/mL and $(5.9 \pm 2.7) \times 10^3$ CFU/mL were recovered at the mouth of the bottles of a sport-drink and orange juice immediately after drinking, respectively. Little bacteria were recovered from the samples 24 h after drinking. *Streptococcus* (59.8 and 36.5%), *Actinomyces* (13.0 and 27.6%), *Neisseria* (5.0 and 3.8%), *Rothia* (4.6 and 1.7%), *Veillonella* (2.7 and 11.3%), *Prevotella* (2.7 and 0.7%), *Schaalia* (2.3 and 2.0%) and *Gemella* (2.3 and 2.4%) were predominant in the remaining sport-drink and orange juice immediately after drinking, respectively. While, *Streptococcus* (50.2 and 35.7%), *Actinomyces* (17.0 and 23.8%), *Neisseria* (7.9 and 2.0%), *Rothia* (6.3 and 5.4%), *Cutibacterium* (4.4 and 1.7%), *Veillonella* (3.5 and 8.8%), *Schaalia* (1.9 and 7.8%), *Gemella* (1.6 and 2.0%) and *Porphyromonas* (1.3 and 0.7%) were predominant at the mouth of the bottles of a sport-drink and orange juice immediately after drinking, respectively.

From these findings, oral bacteria, *e.g.*, *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Neisseria* and *Rothia*, were found to transfer into the sport-drink and orange juice as well as at the mouth of these drinks, and their bacterial compositions were found to resemble that of human saliva. The bacterial levels of the sport-drink and orange juice were quite distinct from those of the tea drink 24 h after drinking. This was likely due to the lower pH of the sport-drink and orange juice, when compared to the neutral-pH of the tea drink (Wakui *et al.*, 2021). This suggests that the remaining of low-pH drinks (such as a sport-drink and orange juice) may be preserved for a longer period than neutral-pH drinks from the view point of bacterial levels.

References:

Wakui *et al*: Profiling of microbiota at the mouth of bottles and in remaining tea after drinking directly from plastic bottles of tea. *Dent J* **9**(6): 58 (7 pages), 2021 June.

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

US6-3 An *in vitro* senescence model of gingival epithelial cell induced by hydrogen peroxide treatment and reversal of senescence by fisetin

○Giri S¹, Takada A², Nagano K³, Paudel D⁴, Yoshida K⁴, Furukawa M⁵, Kuramitsu Y⁶,
Matsushita K⁵, Abiko Y⁴, Furuichi Y^{1*}

¹Div Periodont Endodont, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ²Div Biochem, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ³Div Microbiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ⁴Div Oral Med Pathol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ⁵Dept Oral Dis Res, Natl Cent for Geriatr Gerontol, ⁶Res Inst Cancer Prev, Health Sci Univ Hokkaido

[Objective] Gingival tissue shows progressive changes with aging and an *in vitro* model of gingival tissue could be useful in understanding age associated oral diseases. We aimed to establish a hydrogen peroxide (H₂O₂) treatment model to induce aging in human gingival epithelial cells. In addition, fisetin, a flavonoid component studied for its anti-aging property is used to examine if it could reverse the induced senescence. [Materials and methods] Primary human gingival epithelial progenitor (HGEPp) cells were cultured and treated with different concentrations of H₂O₂. A cell vitality and morphology, senescence-associated beta-galactosidase (SA- β -gal) staining, mRNA and protein expression analysis of known senescence markers p16, p21, and p53, and cell cycle assay were performed.

[Results] The cells showed dose-dependent changes in vitality and morphology, SA- β -gal staining, relative mRNA and protein expression, and cell cycle assay with different concentration of H₂O₂ treatment. Based on these results, 400 μ M H₂O₂ was considered as an optimal concentration to induce senescence. Treatment of senescence-induced cells with fisetin downregulated all the senescence markers used in this study.

[Conclusion] An *in vitro* model of gingival epithelial cellular senescence by H₂O₂ treatment was established. Also, the ability of fisetin to downregulate all the senescence markers was shown in our study.

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

US6-4 Significance of oral microbiome study related to non communicable diseases in Indonesia

○Theodorea CF, Djais AA, Bachtiar BM

Dept Oral Biol, Fac Dent, Univ Indonesia

Indonesia has the fourth population in the world, which consists of 270.2 million inhabitants including numerous ethnic, cultural and linguistic groups. Nowadays, Indonesia is struggling to deal with non-communicable diseases (NCDs). Since 2010, the leading causes of mortality and morbidity in Indonesia have been dominated by the NCDs, such as cerebral stroke, heart diseases, diabetes mellitus and impaired development. NCDs are chronic, often asymptomatic and progressive, thus patients usually unaware of the disease until the sign and symptoms of its complications occur. Some inter-population biological studies reported that oral hygiene status might linked to NCDs based on comprehensive observations of gender-, geography-, ethnicity-, lifestyle-specific variations. Recently, the role of the oral microbiome in health and disease have provided insights into the various ecological events that act as drivers to shift the oral microbiota from homeostasis to fatal dysbiosis. However, determination of oral microbiome profile in Indonesia is challenging due to inter-population biology variation. Although Indonesia has high prevalence of NCDs, the oral microbiome data are not investigated yet. Here we show results of oral microbiome study related to NCDs in Indonesia. This ongoing epidemiological studies may be helpful to understand oral microbial configurations of NCDs in certain area of Indonesia.

Conflict of Interest: The authors declare that there are no conflicts of interest.

US6-5 Exploring the bacterial features of oral *Veillonella* by comparative pan-genome analysis

○Mashima I¹, Liao YC², Lin CH², Nakazawa F³, Haase EM⁴, Kiyoura Y¹, Scannapieco FA⁴

¹Div Oral Infect Immun, Ohu Univ Sch Dent, ²Div Biostat Bioinfor, Inst Pop Heal Sci, Nat Heal Res Inst,

³Dept Oral Biol, Fac Dent, Univ Indonesia, ⁴Dept Oral Biol, Sch Dent Med, Univ Buffalo, The State Univ NY

Genus *Veillonella*, strictly anaerobic Gram-negative cocci, inhabits in oral microbiome as one of the majorities. Previously, it was reported that they utilize lactate instead of carbohydrates as an energy source. However, the other bacterial characteristics of *Veillonella* species have not been clarified yet. In this study, to understand the framework of bacterial functions of oral *Veillonella* in human oral microbiome, comparative pan-genome analysis among the eight species of oral *Veillonella* was investigated. Analysis of the oral *Veillonella* pan-genome revealed features based on the KEGG pathway information to adapt to the oral environment. And core, accessory and unique gene families were well characterized for their bacterial functions in oral microbiome. Of these, in this presentation, we show the results focused on the conserved genes for carbohydrate metabolism in all oral *Veillonella*. It is the first report that oral *Veillonella* could conserve the pathway to utilize the carbohydrates as their energy source besides lactate. This discovery certainly affects the further understanding of the metabolic network among oral microbiome. In addition, it is important knowledge for acceleration of future studies of oral *Veillonella*.

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

1-P1-PM01 マウス舌下神経軸索の伸長誘導に関わる遺伝子群の網羅的解析

○埴 太宥¹, 田谷 雄二¹, 堀江 哲郎², 佐々木康成³, 川本沙也華¹, 工藤 朝雄¹,
佐藤かおり¹, 添野 雄一¹

¹日歯大 生命歯 病理, ²日歯大 生命歯 衛生, ³神奈川こども医療セ 臨床研 歯科

【目的】 舌運動を司る舌下神経の軸索は後頭神経核から伸長して遠隔の舌原基まで到達する。本研究では、マウス舌下神経の軸索伸長誘導に働く分子制御機構について検討した。**【方法】** ICR マウス胎仔（胎生 9.5, 11.5, 14.5 日）の舌原基（下顎突起の正中部）と側方部の組織を採取し、神経軸索ガイダンスに関わる遺伝子に着目して、遺伝子発現の網羅的な解析を行った。遺伝子発現プロファイリングでは、DNA マイクロアレイ分析に基づいて、試料間の発現差、Gene Ontology (GO), Venn 図, ROKU 法, Ingenuity Pathway Analysis (IPA) の解析を行い、神経軸索ガイダンスに働く遺伝子の絞り込みを試みた。遺伝子の発現変動はリアルタイム PCR により検証した。**【結果と考察】** 27309 個の遺伝子を対象にした DNA マイクロアレイ分析により、舌下神経軸索が舌原基に到達直前の胎生 11.5 日の下顎突起正中部（外側舌隆起）を軸として他のステージ/部位と比較すると、各試料間で発現変動する遺伝子数はいずれも 1250 個程度であった。さらに、これらの遺伝子群について Venn 図解析の併用により、胎生 11.5 日の外側舌隆起に特異的な遺伝子として 43 個が列挙できた。一方、ROKU 法による解析から胎生 11.5 日の外側舌隆起で特異的に発現変動する遺伝子は 2749 個が求められ、GO 解析に基づいて得られた biological process の“axon guidance”に含まれる遺伝子 246 個と照らし合わせると、44 個の遺伝子が列挙できた。2 つの方法で列挙された遺伝子群それぞれの IPA 解析から、セマフォリンシグナルに属する遺伝子が舌下神経の軸索の伸長誘導に関わっていることが示唆された。

本研究は JSPS 科研費 #18K09530 & #21K09822 の助成を受けた。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Comprehensive analysis of molecular pathways and key genes involved in axonal guidance in the hypoglossal nerve into mouse tongue primordia

○Hani T¹, Taya Y¹, Horie T², Sasaki Y³, Kawamoto S¹, Kudo T¹, Sato K¹, Soeno Y¹

¹Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ²Dept Oral Health, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ³Dept Dent, Kanagawa Child Med Cent Yokohama

Objectives: The hypoglossal neuroaxes elongate from occipital motor nuclei reached to tongue primordium at E11.5 in mice. In this study, we investigated the molecular mechanism governing the axonal guidance of hypoglossal nerve associated with developing mouse tongue. **Materials & Methods:** Tissues from the median (tongue primordium) and lateral portions of the mandibular arches in ICR mice (E 9.5, 11.5, and 14.5) were collected. DNA microarray analysis were performed for comprehensive gene expression analysis. For gene expression profiling, Gene Ontology, Venn diagram, ROKU method, and Ingenuity Pathway Analysis (IPA) were carried out. The expression changes of candidate genes were verified by real-time PCR. **Results & Discussion:** DNA microarray analysis combining with Venn diagram revealed that 43 genes, whose differential expression in the median portion at E11.5, were identified. On the other hand, 44 genes included in the “axon guidance” based on Gene Ontology analysis were identified in 2749 genes that were listed by ROKU analysis. IPA analysis of each of the listed candidate genes demonstrated that several common candidate genes belonging to the semaphorin signaling pathway are involved in the axonal guidance in the hypoglossal nerve.

Supported by JSPS KAKENHI Grant numbers 18K09530 & 21K09822.

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

1-P1-PM02 口蓋創傷治癒過程における神経堤由来細胞の役割

○瀧澤 秀臣^{1,2,3}, 唐川亜希子^{1,2}, 茶谷 昌宏^{1,2}, 須澤 徹夫⁴, 坂井 信裕^{1,2}, 畔津 佑季^{1,2}, 浦野 絵里⁵, 上條竜太郎⁴, 槇 宏太郎³, 高見 正道^{1,2}

¹昭大 歯 歯科薬理, ²昭大 薬理科学研究セ, ³昭大 歯 矯正, ⁴昭大 歯 口腔生化, ⁵昭大 歯 補綴

【目的】口蓋は、菲薄な粘膜が骨組織に結合した神経堤由来の組織である。従って、唇顎口蓋裂治療における口蓋形成術等の手術に伴う創傷治癒過程では、神経堤由来細胞 (neural crest-derived cells:NCDCs) が重要な役割を担っていると予想されるが詳細は不明である。本研究では、マウスの口蓋創傷治癒モデルを用いて NCDCs の動態や細胞分化能を解析した。

【方法】1) 口蓋創傷治癒モデル: NCDCs が EGFP 標識された遺伝子改変マウス (8 週齢, 雄) の左側口蓋粘膜を歯科用ラウンドバーで切除し、その後 4 週間の治癒経過を観察した。2) 分化マーカー解析: 免疫染色, RT-PCR, およびフローサイトメトリーで解析した。3) 細胞分化能: 幹細胞用培地で増殖した口蓋粘膜細胞をケラチノサイトまたは骨芽細胞の分化誘導因子で刺激し、各細胞分化マーカーの発現を解析した。

【結果】創傷後 2 日目より、NCDCs (GFP⁺細胞) を含む粘膜新生が認められ、7 日目に創傷面積の約 1/3 が、28 日目に全体が新生粘膜で覆われた。新生粘膜の NCDCs には幹細胞マーカー (Sca-1⁺, SSEA3⁺) およびケラチノサイトマーカー (K13⁺, K14⁺) が発現していた。口蓋粘膜から採取直後の細胞は約 40% の NCDCs を含んでいたが、幹細胞用培地で培養すると増殖し、約 90% に至った。そのうち約 70% が幹細胞マーカー (Sca-1⁺, PDGFR α ⁺) を発現しており、これらの細胞を各種分化誘導培地で培養したところ、ケラチノサイト (p63⁺, CD81⁺, K13⁺, K14⁺) または骨芽細胞 (Runx2⁺, Osterix⁺, Col1a1⁺, ALP⁺, 石灰化物産生能有り) に分化した。

【考察】口蓋には神経堤由来幹細胞が存在し、それらが創傷治癒過程においてケラチノサイトに分化することで、口蓋粘膜再生が進行すると考えられる。

【研究協力者】池田めぐみ (昭大・歯・歯内治療), 高橋正皓 (昭大・歯・矯正)

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Role of neural crest-derived cells in palate-wound healing process

○Takizawa H^{1,2,3}, Karakawa A^{1,2}, Chatani M^{1,2}, Suzawa T⁴, Sakai N^{1,2}, Azetsu Y^{1,2}, Urano E⁵, Kamijo R⁴, Maki K³, Takami M^{1,2}

¹Dept Pharmacol, Showa Univ Sch Dent, ²Pharmacol Res Cent, Showa Univ, ³Dept Orthodont, Showa Univ Sch Dent, ⁴Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent, ⁵Dept Prosthodont, Showa Univ Sch Dent

The palate consists of mucosa connected with bone derived from the neural crest. In this study, the role of neural crest-derived cells (NCDCs) in the process of palate-wound healing was examined in mice. Left-side palate mucosa of transgenic mice in which NCDCs were labeled with EGFP was resected using a round bar. To observe the healing process, cell marker expressions were analyzed using immunostaining, RT-PCR, and flowcytometry methods. Furthermore, NCDCs harvested from palate mucosa cells were cultured to induce differentiation into keratinocytes or osteoblasts. After surgery, new mucosa tissue containing NCDCs (GFP⁺ cells) appeared within two days and completely covered the wounded area within 28 days, and those NCDCs expressed stem cell (Sca-1, SSEA3) and keratinocyte (K13, K14) markers. Among primary palate mucosa cells, NCDCs comprised 40%. Subsequently, they showed proliferation in stem cell growth medium and reached a ratio of 90%, with 70% of the NCDCs expressing stem cell markers (Sca-1, PDGFR α). Finally, they differentiated into keratinocytes (p63⁺, CD81⁺, K13⁺, K14⁺) or osteoblasts (Runx2⁺, Osterix⁺, Col1a1⁺, ALP⁺, production of calcific substance). These results suggest that NCDC stem cells exist in palate tissue and have a role in mucosa regeneration by differentiating into keratinocytes during the wound healing process.

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

1-P1-PM03 G タンパク質共役型受容体 Gpr111/Adgrf2 はエナメル質の石灰化を制御する

○千葉 雄太¹, 吉崎 恵悟², 田 甜², 千葉 満生³, 韓 旭¹, 稲田 幸織¹, 福本 敏^{1,3}

¹九大 院歯 小児口腔, ²九大 院歯 矯正, ³東北大 院歯 小児歯

G タンパク質共役型受容体(GPCR) Gpr111/Adgrf2 は Adhesion GPCR グループ VI に属し, 機能およびリガンドが未報告のオーファン受容体である. 我々はこれまでの研究により, Gpr111 と同グループである Adhesion GPCR グループ VI に属し, Gpr111 の重複遺伝子である Gpr115/Adgrf4 がエナメル質の石灰化に重要な役割を持つことを明らかにした. そこで本研究では, 歯の発生過程における Gpr111 の機能を探索した. 歯の発生過程における Gpr111 の発現を検討した結果, Gpr111 は成熟期歯胚のエナメル芽細胞および中間層細胞に強く発現していた. Gpr111 欠損マウスを作成したところ, 8 週齢 Gpr111 欠損マウスでは切歯に白濁がみられ, エナメル質形成不全を呈することが示唆された. マイクロ CT により Gpr111 欠損マウスの表現型を解析した結果, 野生型マウスと比較してエナメル質体積および密度が減少していることが明らかとなった. 加えて, 走査型電子顕微鏡を用いてエナメル質構造を解析したところ, Gpr111 欠損マウスではエナメル質の形成が部分的に阻害されていた. さらに SEM-EDX による元素分析を行なった結果, エナメル質形成不全部位においては炭素の含有量が多く, 有機質が残存していることが示唆された. 以上の結果より, Gpr111 はエナメル質の石灰化に重要な役割を有することが示唆された. さらに前述の背景を踏まえ, Gpr111;Gpr115 二重欠損マウスを作成し Gpr111 と Gpr115 が機能的冗長性を有するか検討した. その結果, Gpr111;Gpr115 二重欠損マウスはエナメル質形成不全を呈し, マイクロ CT 解析では野生型マウスと比較しエナメル質体積の減少を認めた. しかしながら, Gpr111 欠損マウスおよび Gpr115 欠損マウスと比較し, Gpr111;Gpr115 二重欠損マウスではエナメル質形成不全の特徴に大きな変化はみられなかった. 以上の結果より, Gpr111 および Gpr115 はそれぞれ独立した機能を有し, エナメル質石灰化に重要な機能を果たすことが示唆された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

G-protein coupled receptor Gpr111/Adgrf2 regulates enamel mineralization

○Chiba Y¹, Yoshizaki K², Tian T², Chiba M³, Han X¹, Inada S¹, Fukumoto S^{1,3}

¹Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³Div Pediatr Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

G-protein coupled receptor (GPCR) Gpr111/Adgrf2 is an orphan GPCR that belongs to Adhesion GPCR group VI. We previously found that Gpr115/Adgrf4, duplicated gene of Gpr111, plays essential role in enamel mineralization. In this study, we aimed to identify the role of Gpr111 during tooth development. We found that Gpr111 was highly expressed in the maturation stage of ameloblast and stratum intermedium. To clarify the role of Gpr111 during tooth development, we created Gpr111 knockout (Gpr111-KO) mice. Eight-week-old Gpr111-KO mice showed chalky-white incisors, which is sign of enamel hypoplasia. Micro-CT analyses revealed that Gpr111-KO teeth have less volume and low density of enamel compared to that of wild-type (WT). Using scanning electron microscopy, we found that enamel crystallization was partially disturbed in Gpr111-KO teeth. Furthermore, SEM-EDX analyses revealed that Gpr111-KO enamel contains higher carbon amount compared to WT, suggesting that organic matrices were retained in Gpr111-KO enamel. We further created Gpr111 and Gpr115 double-knockout (Gpr111;Gpr115-KO) mice to clarify the relationship of Gpr111 and Gpr115. Gpr111;Gpr115-KO mice developed enamel hypoplasia; however, it was not significantly different from Gpr115-KO or Gpr111-KO mice. These results suggest that Gpr111 and Gpr115 are crucial for enamel mineralization and may have independent roles during tooth development.

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

1-P1-PM04 基底膜分子 Nephronectin は RGD 領域を介してエナメル芽細胞の分化制御に関する

○水田 敢士¹, 吉崎 恵悟¹, 宮崎佳奈子¹, 鮎田 啓太¹, 湯田 智美¹, 田 甜¹,
傅 堯¹, 川原 純平¹, 福本 敏², 高橋 一郎¹

¹九大 院歯 矯正, ²九大 院歯 小児口腔

歯の発生は上皮-間葉相互作用によって開始されることが知られており, 上皮-間葉間に存在する基底膜はそのシグナルを仲介する足場として重要である. 我々は, 上皮-間葉相互作用によって形成される器官に特異的に発現する基底膜分子 Nephronectin (Npnt)に着目し, 歯の発生における役割を解明することを目的として以下の検討を行った. 胎生 14 日齢 ICR マウスより摘出した各種臓器および胎生 11 日齢から生後 7 日齢におけるマウス歯胚を用いて, RT-qPCR 法および免疫染色法にて Npnt の発現パターンを解析した. 結果として, Npnt は歯, 肺および腎臓に強く発現し, 歯においては特に形態形成期に強い発現を認め, 基底膜に局在していた. また, Npnt を培養皿にコーティングし, Npnt の構成因子である RGD 領域と拮抗する RGD ペプチドを添加後, 歯原性上皮細胞株 M3H1 を播種したところ, RGD ペプチド濃度依存的に細胞接着能が低下した. これらの結果から, Npnt の細胞接着活性部位は RGD 領域であることが示唆された. さらに, Npnt の構成因子 EGF like repeat 領域及び RGD 領域を欠失させた Npnt- Δ EGF 及び Npnt- Δ RGD 発現ベクターを作製し, 各領域の機能解析を行った. RGD 領域が歯原性上皮細胞の分化に与える影響を解析するため, M3H1 に全長 Npnt および Npnt- Δ EGF を過剰発現させると, エナメル芽細胞の分化マーカーである Ameloblastin の発現上昇を認めたが, Npnt- Δ RGD を遺伝子導入するとその変化が認められなかった. これらの結果から, 基底膜分子 Npnt は歯の発生において形態形成期の基底膜に局在し, RGD 領域を介してエナメル芽細胞の分化制御を行っていることが示唆された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Nephronectin regulates ameloblast differentiation through its RGD domain

○Mizuta K¹, Yoshizaki K¹, Miyazaki K¹, Funada K¹, Yuta T¹, Tian T¹, Fu Y¹, Kawahara J¹,
Fukumoto S², Takahashi I¹

¹Sect Orthod Dentfac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Tooth development is initiated by epithelial-mesenchymal interactions. The basement membrane between the epithelium and mesenchyme is an essential scaffold that mediates various signals. We focused on Nephronectin (Npnt), which is specifically expressed in the basement membrane during epithelial-mesenchymal interaction. The following experiments were conducted to reveal the role of Npnt in ameloblast differentiation. RT-qPCR and immunohistochemistry were used to determine the expression pattern of Npnt by tooth germs. Npnt was strongly expressed in teeth especially during morphogenesis, and localized in the basement membrane. The dental epithelial cell line M3H1 was seeded after adding the RGD peptide to the Npnt-coating dish, the cell adhesion ability was reduced. In addition, we analyzed the function of RGD domain of Npnt using Npnt- Δ EGF and Npnt- Δ RGD expression vectors, lacking the EGF-like repeats and the RGD domain of Npnt. Full length Npnt and Npnt- Δ EGF overexpression in M3H1 resulted in increased expression of ameloblastin, which is a differentiation marker for ameloblasts. However, Npnt- Δ RGD didn't change the expression of ameloblastin in comparison with the control vector. These data suggests that Npnt is an extracellular matrix localized in the basement membrane during morphogenesis during tooth development, and regulates the differentiation of ameloblasts through the RGD domain.

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

1-P1-PM05 Wnt シグナルが YAP を介して歯胚の形態形成を制御する分子基盤の解明

○長野 良子, 清島 保, 藤井 慎介

九大 院歯 口腔病理

遺伝子改変マウスにおける歯原性上皮特異的な Wnt/ β -カテニンシグナルの活性化により, 歯牙腫が発生することが報告されている. 最近, 私共の研究室では, その分子基盤を明らかにした. 即ち, 歯胚器官培養において CHIR99021 (GSK-3 阻害剤) 刺激により Wnt/ β -カテニンシグナルを活性化させたところ, 細胞増殖抑制に伴う歯胚の形態異常が生じることを報告した (Sci Rep. 2019). また, この形態形成の異常は細胞増殖の亢進だけでは回復しないことを見出した. これらのことから, Wnt/ β -カテニンシグナルは細胞増殖に加え, 他の分子基盤を介して歯胚の形態形成に関与すると考えられたが, その詳細なメカニズムは不明である. 本研究では, Wnt/ β -カテニンシグナルが歯胚の形態形成を制御する分子基盤を明らかにすることを目的とした. 歯原性上皮細胞において CHIR99021 刺激により発現変動した遺伝子群について, マイクロアレイ解析結果を用いて KEGG pathway 解析を行ったところ, 器官の形態形成に関わる YAP シグナルが抑制されていた. そこで, 歯原性上皮細胞において CHIR99021 刺激したところ, YAP シグナルの下流遺伝子の発現が抑制された. さらに, その抑制は CHIR99021 刺激依存的な β -カテニンの活性化による転写共役因子 YAP の発現減少に依存していた. また, 胎生 15 日のマウスより摘出した帽状期歯胚の器官培養において, 日数経過と共に Wnt/ β -カテニンシグナルの活性は低下していくが, YAP シグナル下流遺伝子の発現は上昇していた. 一方, この器官培養において CHIR99021 刺激すると YAP シグナルは抑制された. これらの結果から, 歯原性上皮において Wnt/ β -カテニンシグナルは YAP の発現制御に依存したシグナル伝達の活性化を介して, 歯胚の形態形成を制御する可能性が示唆された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Wnt/ β -catenin-mediated YAP signaling activation regulates tooth germ morphogenesis

○Nagano R, Kiyoshima T, Fujii S

Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Recently, we demonstrated that Wnt/ β -catenin signaling negatively regulates odontogenic epithelial cell proliferation and associates with abnormal tooth germ development. In the study, it is suggested that Wnt/ β -catenin signaling regulates not only cellular growth but also another cellular function. Herein, we investigated the mechanism of tooth germ morphogenesis mediated by Wnt/ β -catenin signaling. DNA microarray analysis was performed to isolate genes the expression of which was regulated by CHIR99021, GSK-3 inhibitor, treatment. KEGG pathway demonstrated that CHIR99021 treatment down-regulated YAP signaling, which regulates morphogenesis of various tissues and organs. Consistent with DNA microarray analysis, we confirmed that YAP signaling was down-regulated by CHIR99021 treatment in two dental epithelial cell lines in vitro, which depends on reduction of YAP expression. Furthermore, we examined the involvement of Wnt/ β -catenin signaling in tooth germ development by using organ culture of tooth germ rudiments of E15 mouse embryos. In the model, CHIR99021 treatment reduced both YAP and its downstream molecules. These data indicated that CHIR99021 treatment induced activation of Wnt/ β -catenin signaling to suppress YAP signaling, which might depend on YAP expression level, and suggested that Wnt/ β -catenin-mediated YAP signaling might regulate tooth morphogenesis.

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

1-P1-PM06 GPI アンカー型タンパク質 Lypd1 は象牙芽細胞分化に重要な役割を果たす

○傅 堯¹, 宮崎佳奈子¹, 吉崎 恵悟¹, 千葉 雄太², 鮎田 啓太¹, 田 甜¹,
湯田 智美¹, 水田 敢士¹, 福本 敏², 高橋 一郎¹

¹九大 院歯 矯正, ²九大 院歯 小児口腔

A GPI-anchored protein Lypd1 plays an important role in odontoblast differentiation during tooth development

○Fu Y¹, Miyazaki K¹, Yoshizaki K¹, Chiba Y², Funada K¹, Tian T¹, Yuta Y¹, Mizuta K¹,
Fukumoto S², Takahashi I¹

¹Sect Orthod Dentfac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Purpose: Lipid rafts are composed of glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchors and transmembrane proteins, and are localized in the cell membrane. It is known that the lipid raft plays important roles as an organizing center for signal transduction and are essential for organogenesis. However, the function of lipid rafts in tooth development is unclear yet. In this study, we analyzed the expression pattern and the function of GPI-anchored protein LY6/PLAUR domain 1 (Lypd1) as the lipid raft component in tooth development. **Materials & Methods:** We performed single-cell RNA-seq (scRNA-seq) analysis using embryonic day (E) 16 tooth germ. qRT-PCR was conducted using organs from E16 ICR mice and molars from each stage of tooth development. In addition, immunohistochemistry (IHC) and in situ hybridization (ISH) were performed using E15 molar and postnatal day (P) 1 incisor to confirm the localization of Lypd1. A lipid raft inhibitor Methyl- β -cyclodextrin (M β CD) is applied in tooth germ organ culture system. Furthermore, Lypd1 siRNA were transfected into mouse dental mesenchymal cell line (mDP) and its differentiation was analyzed. **Results & Conclusion:** We analyzed scRNA-seq using mouse embryonic tooth germs and found that Lypd1 was specifically detected in the pre-odontoblast cluster. Lypd1 has been reported to play an important role in tumorigenesis, anxiety control and angiogenesis as a GPI anchor, while the mechanisms of functions in tooth development was not understood. qRT-PCR results showed that Lypd1 was highly expressed in the brain and teeth, especially in mesenchymal cells in teeth germ. The expression of Lypd1 is increased during differentiation stages of odontoblasts. IHC and ISH revealed that Lypd1 was localized in the pre-odontoblasts and in the odontoblasts. To clarify the role of Lypd1 on tooth germ formation, we conducted organ culture method. The expression of dentin sialophosphoprotein (DSPP) and dentin matrix acidic phosphoprotein 1 (DMP1) were downregulated in Lypd1 siRNA transfected to tooth germs. Similarly, M β CD inhibited tooth germ formation in dose-dependent manner. We also confirmed that DSPP and DMP1 were downregulated in mDP cells transfected with Lypd1 siRNA. In conclusion, Lypd1 is specifically expressed in pre-odontoblasts and regulates odontoblast differentiation. Lipid rafts may play important roles in tooth germ formation.

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

1-P1-PM07 低温器官培養法を用いた抗癌剤シクロホスファミドによる歯胚形成阻害回避モデルの構築

○田 甜¹, 吉崎 恵悟¹, 宮崎佳奈子¹, 鮎田 啓太¹, 湯田 智美¹, 水田 敢士¹,
傅 堯¹, 川原 純平¹, 福本 敏², 高橋 一郎¹

¹九大 院歯 矯正, ²九大 院歯 小児口腔

Low-temperature prevents the side effects of an anti-cancer drug, cyclophosphamide, in tooth organ culture model

○Tian T¹, Yoshizaki K¹, Miyazaki K¹, Funada K¹, Yuta T¹, Mizuta K¹, Fu Y¹, Kawahara J¹,
Fukumoto S², Takahashi I¹

¹Sect Orthod Dentfac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Purpose Anti-cancer drug treatment causes severe side effects including tooth agenesis, dry mouth, hair loss, and taste loss. Most of these effects are reversible, whereas tooth defect is irreversible. Therefore, pediatric cancer patients who received chemotherapy, have to be suffered from the symptoms of teeth such as loss and defect of tooth, which results in severe oral dysfunction to the patients' life. Cyclophosphamide (CPA) is an alkylating agent that inhibit DNA replication, which is commonly used for cancer treatment in children such as leukemia. It is reported that treatment with CPA inhibits the tooth development in pediatric cancer patients, however the mechanism to avoid the side effects is unclear yet. In this study, we investigated the effect of CPA during tooth development. Moreover, we have constructed a system to avoid the side effects of anti-cancer drugs. **Materials & Methods** Organ culture was performed by using embryonic day 14, 16 and 18 (E14, E16 and E18) tooth germs treated with CPA. M3H1 dental epithelial cell line was analyzed by cell-counting, immunofluorescence, qRT-PCR and MTT assay. Comprehensive analysis in gene expression was performed using Cap Analysis of Gene Expression (CAGE). The cell cycle molecules were analyzed by Western blotting using M3H1 cells. **Results & Conclusion** Treatment of CPA disturbed the growth of tooth germs at E14 and E16 by inducing apoptosis and suppression of cellular proliferation and differentiation. However, CPA treatment on E18 tooth germs showed higher survival rate than the other CPA treated groups and formed tooth germ structure. Furthermore, we found that the organs cultured in low-temperature could avoid the CPA-mediated inhibition of organ morphogenesis and differentiation. To assess the molecular mechanism of the effect of culturing temperature on CPA treatment, genome-wide analysis of gene expression was conducted by using cap analysis of gene expression (CAGE). Differential gene expression analysis revealed that the expression of genes related to G1-S cell cycle checkpoint were down-regulated in the CPA-treated tooth germ cultured in low-temperature compared with that of cultured in conventional-temperature. In vitro analysis using dental epithelial cell line M3H1 revealed that low-temperature impeded Rb phosphorylation and caused cell cycle arrest at G1 phase, which can prevent the damage on DNA replication caused by cross linking reaction of CPA. Our results revealed that the side effects of CPA on organ development can be avoided by keeping low-temperature circumstance

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

1-P1-PM08 胎生期マウス舌筋発生における筋芽細胞の分化制御

○川本沙也華¹, 田谷 雄二¹, 佐々木康成², 埴 太宥¹, 工藤 朝雄¹, 佐藤かおり¹, 添野 雄一¹

¹日歯大 生命歯 病理, ²神奈川こども医療セ 臨床研 歯科

【緒言】胎生期での骨格筋発生では、転写因子 *Nfix* が胚性筋芽細胞から胎性筋芽細胞への分化制御に重要な働きをもつことが示唆されている。本研究では、舌筋発生に着目して筋芽細胞分化に働く *Nfix* を中心とした分子機構について検討した。【材料と方法】ICR マウス胎仔（胎生 10.5～18.5 日）から発生段階の異なる舌原基および舌組織を採取し、DNA マイクロアレイ解析により遺伝子プロファイリングを行うとともに、その検証として mRNA と microRNA の発現定量解析と免疫組織化学による局在解析を行った。さらに、舌筋での *Nfix* の分子機能を確かめるために Morpholino ODN を使った *Nfix* 阻害を行った。【結果および考察】舌原基における *Nfix* の発現は、胎生 10.5 日から胎生 11.5 日にかけて急速に発現上昇して胎生 14.5 日で発現ピークとなり、その後、一定の発現量を維持していた。この解析から体肢骨格筋では胎生 16.5 日で発現ピークを示すことと異なる結果を得た。さらに、胚性および胎性筋芽細胞の両方の指標遺伝子 (*Myh3*, 7, 8, および *Msc*) が *Nfix* と同様な発現パターンを示すことが判明した。舌原基内では、筋前駆細胞から *MyoD* 陽性の筋芽細胞への分化時期とほぼ一致して、*Nfix* 陽性筋系譜の細胞は胎生 11.5 日には出現し、胎生 14.5 日では多数の細胞局在が確認できた。また、*Nfix* 発現阻害により、胎性筋芽細胞マーカー遺伝子の発現が抑制されることがわかった。以上のことから、*Nfix* は舌筋での胎性筋芽細胞の分化を担う重要な分子であり、胎性筋芽細胞への分化時期は四肢骨格筋と比べて早期に起こることが示唆された。本研究は JSPS 科研費 #15K11024, 21K09822 の助成を受けた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Molecular regulation of myoblast differentiation in embryonic mouse tongue

○Kawamoto S¹, Taya Y¹, Sasaki Y², Hani T¹, Kudo T¹, Sato K¹, Soeno Y¹

¹Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ²Dept Dent, Kanagawa Child Med Cent Yokohama

Objectives: The transcription factor *Nfix* acts as the unique molecular switches from embryonic to fetal myoblast lineage in limb and trunk myogenesis. We focused on myoblast differentiation regulated by *Nfix* and their related factors during tongue development. **Materials & Methods:** Tongue primordia including muscle tissues were dissected from ICR mouse embryos at E9.5–18.5. Expression of myogenic genes and myogenic differentiation markers were analyzed by mRNA/microRNA microarray, qPCR, and immunohistochemistry. *Nfix* knockdown was also carried out for tongue myogenesis in organ culture. **Results:** *Nfix* expression in tongue primordia started at E10.5 and reached its peak level at E14.5. *Nfix*-associated embryonic myoblast-specific genes were down-regulated and fetal myoblast-specific genes were up-regulated after E14.5. Our analyses supported the involvement of multiple microRNAs that target *Nfix* mRNA, in regulating myogenic gene expression. Immunohistochemical analysis revealed that *Nfix*-positive myoblasts appeared at E11.5 and lots of their myoblasts were localized in tongue primordia at around E14.5. In addition, *Nfix* knockdown reduced the expression levels of fetal myoblast maker genes. **Conclusion:** It is suggested that *Nfix* and its related gene/miRNA expression may play a pivotal role in fetal myoblast differentiation in tongue myogenesis. Supported by JSPS KAKENHI Grant numbers 15K11024 & 21K09822.

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

1-P1-PM09 ライブ観察法を用いた口蓋突起挙上時の組織変形の解析

○長坂 新¹, 崎山 浩司¹, 板東 康彦¹, 小野澤 豪^{1,2}, 天野 修¹

¹明海大 歯 解剖, ²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に異常が生じると口蓋裂が発症することとなる。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自体がどのように変形するのか、他の口腔組織とどのように協調しているのかなどは不明な点が多い。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変形を伴う「外側口蓋突起の挙上」という現象に着目し、変形の過程を明らかにすることを目的とした。大脳原基の観察などで用いられるライブ観察法をマウス胎仔の口蓋突起に応用し、リアルタイムでの組織変形を経時観察した。条件検討の結果、6時間のライブ観察を行うことができ、口蓋突起の組織変形および組織を構成する細胞の動態を観察することができた。口蓋突起の角度変化を1時間ごとに調べたところ、口蓋突起は常に舌側方向へ挙上を続け、6時間で約12°の変形があった。また、口蓋突起の舌側はより鋭角に変形し、6時間で約17°、頬側は鈍角に変形し6時間で約2°の変形があった。さらに、組織中の間葉細胞はどの部分でもおおよそ挙上する方向へ移動していることが観察された。今回、口蓋突起挙上のリアルタイムでの観察を目指しライブ観察法の構築を行なった。その結果、6時間の組織変形を観察することができ、口蓋突起の部位特異的な変形度合いの違い、および組織内での細胞動態を観察することができた。本研究で用いたライブ観察法は市販の標識試薬を用いて簡便に組織および組織内の細胞を可視化し観察することが可能であり、マウス胎仔の口蓋突起以外の組織にも応用が可能と考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Observation of palatal shelf elevation using by live imaging method

○Nagasaka A¹, Sakiyama K¹, Bando Y¹, Onozawa G^{1,2}, Amano O¹

¹Div Anat, Meikai Univ Sch Dent, ²Div First Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch of 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 the cleft palate. During secondary palate development, mouse genetic approaches have been widely used to study. However, during appropriate palatogenesis, it is unclear how the palatal shelf is formed. In this study, to directly observe tissue and cell behavior during secondary palate development, especially focusing on the palatal shelf elevation, we established confocal live imaging method in explant culture. We used embryonic day 13 mouse embryos, which occur the palatal shelf elevation. Cross-sectional slice culture of palatal shelves was microsurgically processed and embedded in a dish with a collagen gel. For the observation, cells were visualized by nuclear staining dye. In this poster, we show that the observation of palatal shelf elevation for six hours.

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

1-P1-PM10 Growth Differentiation Factor 5 (GDF5) による高密度培養の未分化間葉細胞遊走に与える BMP 受容体—Smads 経路の役割の検討

○竹崎 公章¹, 新留 裕子², 林 慶和¹, 畠山 純子³, 米田 雅裕³, 畠山 雄次¹, 玉置 幸雄²

¹福歯大 機能構造, ²福歯大 矯正, ³福歯大 総合歯

【目的】 Growth Differentiation Factor 5 (GDF5) は BMP ファミリーに分類される成長因子であり, *in vitro* において軟骨形成促進することが報告されている. また *in vivo* においては軟骨原基形成予定領域, 軟骨膜, 関節形成領域の細胞凝集に GDF5 の発現が認められる. これまで GDF5 の細胞凝集に果たす役割について様々な検討がなされてきたが作用機序の詳細については不明である. そこで GDF5 の細胞凝集に与える Smad 経路の役割を細胞遊走に着目して検討を行った. 【試料および方法】 マウス未分化間葉細胞株 C3H10T1/2 の $1.5-2.0 \times 10^7$ cells/ml 細胞懸濁液を細胞培養シャーレに滴下し高密度培養を行った. 初期細胞接着の後, 細胞接着領域をピペットチップにて細胞を剥離した. 直ちにリコンビナントマウス GDF5 添加細胞培地に交換し, 同一無細胞領域を 1 時間毎に写真撮影を行い, 画像上にて領域面積を計測した. また BMP 受容体—Smads 経路阻害剤として K02288 を添加した. 未分化間葉細胞の軟骨形成能は, GDF5 および K02288 添加, または無添加培地にて 3 日間培養後アルシアンブルー染色を施した. また 7 日間培養後, 酸性ムコ多糖産生量測定を行った. 無細胞領域の計測は各群 5 つの細胞培養において, また酸性ムコ多糖測定は各群 6 つの細胞培養において計測した. 【結果と考察】 培養 3 日後の GDF-5 添加群は無添加群と比較してアルシアンブルー染色に強く染まり, 培養 7 日後の酸性ムコ多糖産生量は有意に増加した. 一方, K02288 添加群ではアルシアンブルー染色で弱く染まり, 酸性ムコ多糖産生量は有意に抑制された. GDF5 添加群の無細胞領域の面積は無添加群と比較して有意に減少した. 一方, K02288 添加群では GDF5 添加群と比較して無細胞領域の面積は減少しなかった. これらのことから高密度培養において GDF5 は軟骨基質産生を促進し, 高密度培養初期において未分化間葉細胞の遊走を促進するが, これらは BMP 受容体 Smad 経路が関与する可能性が示された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

The role of BMP receptors Smad signaling pathway in mesenchymal cell migration induced by Growth Differentiation Factor 5 (GDF5) in chondrogenesis

○Takezaki M¹, Nidome Y², Hayashi Y¹, Hatakeyama J³, Yoneda M³, Hatakeyama Y¹, Tamaoki S²

¹Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll, ²Div Orthodont, Fukuoka Dent Coll, ³Div Gen Dent, Fukuoka Dent Coll

Growth Differentiation Factor 5 (GDF5) gene expression localizes to the condensing mesenchyme of the limb. Although various studies have carried out clarifying the role of GDF5 in chondrogenesis, detail effect of GDF5 in mesenchyme cell aggregation still remain unclear. This study attempted to evaluate the role of GDF5 and its Smad signaling pathway in cell migration. Mouse mesenchyme cell was dissociated to single cell suspension to micromass culture. After initial cell attachment micromass culture were scratched using pipette chips and medium was exchanged to medium with GDF5. Cell migration area was measured on captured pictures using computer application. BMP receptors to Smads signaling pathway inhibitor K02288 was added each medium. After 3day and 7day alcian blue staining and measurement of acid mucopolysaccharide was performed. As a result, GDF5 promoted alcian blue staining and production of acidic mucopolysaccharide. Cell free area of micromass culture with GDF5 was decreased compared with control. In the presence of K02288 both alcian blue staining and acid mucopolysaccharide production was decreased, and cell free area was increased compared with presence of GDF5. These data suggest that BMP receptor to Smads signaling would be involved in mesenchyme cell migration promoted by GDF5 in micromass culture.

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

1-P1-PM11 一軸性伸展刺激により *in vitro* で骨芽細胞分化を促進する条件の検討

○竹本 史子^{1,2}, 福原 瑤子¹, 池亀 美華¹, 上岡 寛², 岡村 裕彦¹

¹岡大 院医歯薬 口腔形態, ²岡大 院医歯薬 矯正

【緒言】機械的刺激は、骨量の維持と骨芽細胞の分化や機能に不可欠な要素であり、そのメカニズムの解明は歯科矯正治療への応用や骨関連疾患の原因解明に重要である。骨芽細胞の分化や機能に及ぼす機械的刺激の作用メカニズムの解析には、培養細胞を用いた様々な *in vitro* の実験系が開発されてきた。しかし、骨芽細胞分化を促進する条件は機械的刺激を与える装置により異なるため、使用する装置や研究目的に応じて刺激条件を詳細に検討する必要がある。本研究では、培養細胞に一軸性伸展刺激を与える装置 (ShellPa) を用いた際の骨芽細胞分化を促進する条件を検討した。【方法】マウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 を、コラーゲンコーティングしたシリコン製ストレッチチャンバーに播種した。成長培地にて 24 時間培養した後、分化培地に代え、ShellPa を用いて一軸性伸展刺激を与える群 (刺激群) と非刺激群に分けた。刺激群に与える刺激の種類は間欠的または持続的伸展刺激とし、伸展率やサイクル数を変更しながら条件検討を行った。【結果および考察】骨芽細胞分化マーカー遺伝子の発現を経時的にリアルタイム PCR で調べた。10% 伸展率で 6 時間の持続伸展刺激を与えた群では、分化マーカーの発現増加は認められなかった。一方、10% 伸展率で 6 時間の間欠的伸展刺激を与えた群では、72 時間後に非刺激群と比較して Runx2 および Osterix の有意な発現増加を認めた。以上より、今回使用した装置 ShellPa では、10% 伸展率で 6 時間の間欠的伸展刺激を与える条件が、骨芽細胞分化の促進にふさわしいものと考えられた。今後はこのシステムを用いて機械的伸展刺激による骨芽細胞分化促進に関与する因子を検討する予定である。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Exploration of the appropriate conditions for promoting osteoblast differentiation by an *in vitro* uniaxial stretch stimulation

○Takemoto F^{1,2}, Fukuhara Y¹, Ikegame M¹, Kamioka H², Okamura H¹

¹Dept Oral Morphol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ²Dept Orthodont, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

Mechanical stimulation is closely related to osteoblastogenesis. To analyze how mechanical stimuli affect osteoblast differentiation and function, *in vitro* experiments are essential. However, the appropriate stimulatory stretch conditions for osteoblast differentiation should be defined according to the stimulation device. Here, we investigated the appropriate conditions that promote osteoblast differentiation using a uniaxial stretch stimulation system (ShellPa). Mouse osteoblastic MC3T3-E1 cells were cultured on collagen-coated stretch chambers for 24 h. Then, the cells were continuously cultured with a differentiation medium and subjected to a uniaxial stretch stimulation induced by ShellPa. Different types of stimuli, cyclic or continuous stretching, were given to the stimulated group. The real-time PCR analysis showed that the expression of osteoblast differentiation markers (Runx2 and Osterix) was significantly increased in the group receiving cyclic stimulation for 6 hours at 10% extension compared to the non-stimulated group after 72 hours. However, no change in the expression of differentiation markers was observed in the groups receiving continuous stretch stimulation. Thus, using Shellpa, cyclic stimulation for 6 hours at 10% stretch rate appears to promote osteoblast differentiation. Using this, further studies will be performed to investigate the factors related to the promotion of osteoblastogenesis by mechanical stress.

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

1-P1-PM12 骨形成における miR-125b の役割：miR-125b-2 ノックアウトマウスの解析

○小笠原伯宏^{1,2}, 南崎 朋子¹, 河野 尚平¹, 星野 友則¹, 吉子 裕二¹

¹広大院医 硬組織代謝生物, ²広大院医 矯正

我々は骨芽細胞特異的に miR-125b-5p を過剰発現する (Tg) マウスが著しい骨量増加を示し, miR-125b-5p は Prdm1 を標的として破骨細胞分化を阻害することを見出した (Commun Biol, 2020). 同 Tg マウスの骨形成は正常であったが (IJMS, 2021), miR-125b は Bmpr1b を標的として骨芽細胞分化を負に制御することが示唆されている (Cell Physiol Biochem, 2017). miR-125b は異なる染色体 (ヒト chr11/chr21, マウス chr9/chr16) 上の miR-125b-1 および miR-125b-2 に由来するため, 我々はそれぞれのノックアウトマウスを作製した. 今回は miR-125b-2 ノックアウト (125b-2 KO) マウスの解析結果を報告する. 125b-2 KO マウスは正常に出生し, 外観上特筆すべき異常は見られなかった. 同 KO マウス大腿骨の miR-125b レベルは野生型 (WT) マウスと比較して低値を示したが, 血中 miR-125b レベルは WT マウスと同等であり, 脛骨の骨形態計測パラメータにも特筆すべき所見は認められなかった. 125b-2 KO マウス骨髓細胞の miR-125b レベルは WT マウスと比較して低値であり, 同細胞を骨分化培地 (アスコルビン酸, β グリセロリン酸およびデキサメサゾン) で培養すると, BMP2 の存在にかかわらず骨芽細胞分化が著しく亢進した. 以上の結果から, miR-125b-2 は骨芽細胞分化を負に制御するものと思われる. 125b-2 KO マウスの個体レベルにおいては, miR-125b-1 に由来する miR-125b が血中レベルを正常に保ち, miR-125b-2 の欠損にともなう骨への影響を軽減させるものと推測される.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

The roles of miR-125b in bone formation: analysis of miR-125b-2 KO mice

○Ogasawara T^{1,2}, Minamizaki T¹, Kohno S¹, Hoshino T¹, Yoshiko Y¹

¹Dept Calcif Tissue Biol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci, ²Dept Orthod, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

Recently, we demonstrated that transgenic (Tg) mice overexpressing miR-125b in osteoblasts exhibited a marked increase in bone mass and that miR-125b targeted Prdm1 and subsequently inhibited osteoclast formation (Commun Biol, 2020). Although bone formation in Tg mice was normal (IJMS, 2021), miR-125b may inhibit osteoblast differentiation by targeting Bmpr1b (Cell Physiol Biochem, 2017). Since miR-125b is derived from miR-125b-1 and miR-125b-2 on two different chromosomes (chr11/chr21 in humans, chr9/chr16 in mice), we generated miR-125b-1 and miR-125b-2 KO mice, respectively. In this study, we focused on miR-125b-2 KO (125b-2 KO) mice and evaluated their bone phenotype. 125b-2 KO mice were born normally, and no abnormality was observed in appearance. A decline in miR-125b levels of femurs but not blood was observed in 125b-2 KO mice. Bone morphometric analyses of tibiae demonstrated no significant differences between 125b-2 KO and wild-type (WT) mice. However, 125b-2 KO bone marrow stromal cells cultured ex vivo had enhanced osteoblastogenesis and mineralized bone nodules in association with decreased miR-125b levels. These results suggest that miR-125b may act as an inhibitor of bone formation. In 125b-2 KO mice, systemic miR-125b may mitigate the effects of decreased miR125b levels on bone.

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

1-P1-PM13 副甲状腺ホルモン製剤投与による皮質骨多孔化の細胞学的メカニズムについて

○阿部 未来¹, 山本知真也^{1,2}, 本郷 裕美¹, Alireza Nasoori¹, 網塚 憲生¹, 長谷川智香¹

¹北大 院歯 硬組織発生, ²陸自 真駒内駐屯地

副甲状腺ホルモン (PTH) 製剤間歇投与では, 皮質骨多孔化が誘導されることが知られている。我々は, PTH 間歇投与による皮質骨多孔化の細胞学的メカニズムを明らかにする目的で, 生後6週齢 C57BL/6J マウスに hPTH[1-34] (40 μ g/kg/day) を1日4回腹腔内投与し, 投与1, 3日, 1, 2, 3週間経過後の大腿骨皮質骨の変化を組織学的に解析した。

その結果, PTH 間歇投与マウスの大腿骨皮質骨では, 骨幹端部成長板直下から骨幹部に向かって経時的に多孔化が進行するとともに, 多孔化は皮質骨骨内膜側から生じる傾向が認められた。PTH 非投与のコントロールマウスの大腿骨骨内膜側では, endomucin 陽性血管が, 骨表面を覆う ALP 陽性骨芽細胞の骨髄側に局在しており, また, TRAP 陽性破骨細胞をほとんど認めなかった。ところが, PTH 間歇投与マウスでは, ALP 陽性骨芽細胞が皮質骨表面を覆っていたが, TRAP 陽性/PDGFbb 陽性破骨細胞と endomucin 陽性血管が互いに接近した状態で骨表面近くに局在する傾向が認められた。また, 一部の endomucin 陽性血管は, TRAP 陽性/PDGFbb 破骨細胞とともに皮質骨内部へと侵入していた。

以上, PTH 間歇投与では, TRAP 陽性破骨細胞と endomucin 陽性血管が互いに接しながら皮質骨骨内膜側に近づき, また, 皮質骨内部へと侵入することが強く示唆された。このことから, PTH 投与で骨リモデリングが亢進した皮質骨内部に血管が入り込むことによって, 皮質骨多孔化の原因となる可能性が推察された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Cellular mechanism on cortical porosity induced by intermittent PTH administration

○Abe M¹, Yamamoto T^{1,2}, Hongou H¹, Alireza N¹, Amizuka N¹, Hasegawa T¹

¹Dept Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent, ²Camp Makomanai JGSDF

It has been reported that intermittent PTH administration often causes cortical porosity in bone. In order to clarify the cellular mechanism of cortical porosity induced by intermittent PTH administration, we have histochemically examined the femoral cortical bone of mice received hPTH[1-34] 40 μ g/kg/day (four times a day) for 1, 3, 7, 14, 21 days. The PTH-driven cortical porosity initiated from the metaphyseal region close to the epiphyseal growth plate, and then, chronologically expanded towards the diaphysis. In the control mice, ALP-positive osteoblasts covered on the endosteal surface of the cortical bone, and endomucin-positive blood vessels located over the apical region of osteoblasts keeping away from the bone surface. In the PTH administrated mice, endomucin-reactive blood vessels accompanied with TRAP-positive/PDGFbb-immunoreactive osteoclasts were shown to penetrate the thick layer of ALP-positive osteoblasts, often reaching the bone surface and invading into the cortical bone. Taken together, it seems likely that the endomucin-positive blood vessels accompanied with osteoclasts would migrate into the cortical bone, intervene the old and new bones during accelerated remodeling of the cortical bone, and eventually induce the cortical porosity.

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

1-P1-PM14 高齢マウスの顎関節における網羅的遺伝子解析

○楊 牧蓁, 中村 恵, 笹野 泰之
東北大 院歯 顎口腔組織発生

Whole transcriptome profiling and immunohistochemical analysis in the TMJ condyle of aged mice

○Yang MC, Nakamura M, Sasano Y

Div Craniofac Dev Tissue Biol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Purpose: The temporomandibular joint (TMJ) has been reported to deform the morphology with aging. The surface of the TMJ condyle is covered with fibrocartilage consisting of chondrocytes and extracellular matrix (ECM) such as collagen type I, collagen type II and proteoglycans. Matrix metalloproteinases (MMPs) are the major ECM proteases that contribute to ECM remodeling by degrading collagens and proteoglycans. However, few studies have focused on the role of MMPs in the aged TMJ. The purpose of this study is to identify up-regulated and down-regulated genes encoding MMPs by whole transcriptome analysis and to investigate the distribution of corresponding translated proteins by immunohistochemistry in the TMJ of aged mice. **Materials & Methods:** 10-week-old and 50-week-old male C57BL/6 mice were used. Total RNA was extracted from the TMJ and cap analysis of gene expression (CAGE) was performed for whole transcriptome analysis. Based on the CAGE data, gene ontology (GO) analysis was performed by Metascape. In addition, TMJ samples were fixed with paraformaldehyde, decalcified with EDTA and embedded in paraffin. Serial sections were cut and used for immunohistochemistry. **Results & Conclusion:** CAGE analysis showed that the gene expression of MMP-3 was up-regulated while those of MMP-9 and MMP-13 were down-regulated in the TMJ of 50-week-old mice. GO analysis also showed that the most enriched gene group was the extracellular matrix organization, including MMPs-3, -9 and -13. MMP-9 immunoreactivity was localized in multinucleated cells at the bone-cartilage interface of condyle. MMP-13 protein was mainly expressed in the hypertrophic layer of TMJ condyle, and MMP-3 protein was expressed in all layers except for the hypertrophic layer. Our results demonstrated that MMP-3 gene is up-regulated, and MMP-9 and MMP-13 genes are down-regulated in the TMJ of 50-week-old mice, and these MMPs have different localization in the TMJ condyle.

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

1-P1-PM15 抜歯窩治癒過程における Gli1 陽性歯根膜細胞の分化能

○藤井 彩貴¹, 建部 廣明², 溝口 利英³, 志茂 剛¹, 細矢 明宏²

¹北医療大 歯 組織再建口外, ²北医療大 歯 組織, ³東歯大 口腔科学研究セ

【目的】抜歯窩治癒過程において、骨芽細胞が出現し抜歯窩を骨に置換することが知られている。しかしながら、修復時に現れる骨芽細胞が歯根膜あるいは歯槽骨のどちらに由来するかは不明である。近年、ソニックヘッジホッグ(Shh)シグナルの下流因子である Gli1 は歯の発生過程において、幹細胞特性を示すことが知られている。そこで本研究では、抜歯窩治癒過程における Gli1 陽性細胞の動態を Cre-loxP システムを用いた細胞系譜解析で検討した。【材料および方法】タモキシフェンを2日間投与した4週齢 Gli1-Cre^{ERT2};tdTomato (iGli1/Tomato)マウスの上顎第二臼歯を抜歯した。抜歯前と抜歯後1日、3日、7日に上顎骨を取り出し、H-E染色およびPCNA, Osteopontin, Osterix の免疫組織化学染色を行った。また、Gli1/Tomato 陽性細胞の局在を観察し、一部のマウスは抜歯後にカルセインを隔日投与し、新生骨をラベルした状態で同様に検討した。【結果】抜歯後1日では抜歯窩周囲の歯槽骨表面に歯根膜様の結合組織がみられた。また、抜歯窩中央部に好中球を含む炎症性細胞が多数認められた。3日後、抜歯窩の炎症性細胞は消失し、PCNA 陽性の増殖細胞が多数発現した。7日後、抜歯窩に既存の歯槽骨から離れて Osteopontin 陽性の骨が島状に形成された。この新生骨表面には多くの Osterix 陽性を示す骨芽細胞が配列していた。Gli1 陽性細胞は抜歯窩で多数認められ、一部はカルセイン陽性の新生骨表面および内部に局在していた。【結論】歯根膜に存在する Gli1 陽性細胞は抜歯後に増殖し、新生骨の形成に寄与することが示された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Differential ability of Gli1-positive cells in periodontal ligament after tooth extraction

○Fujii S¹, Takebe H², Mizoguchi T³, Shimo T¹, Hosoya A²

¹Div Reconstruct Surg Oral Maxillofac Reg, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ²Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ³Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll

During the tissue repair process after tooth extraction, osteoblasts appear in the tooth socket and form alveolar bone. However, the source of these osteoblasts is still uncertain. Gli1 is known to exhibit stem cell properties during tooth development. Therefore, in this study, we investigated the localization of Gli1-positive cells and their progeny cells after tooth extraction using Gli1-Cre^{ERT2};Rosa26-loxP-stop-loxP-tdTomato (iGli1/Tomato) mice. After 2 days of tamoxifen administration to iGli1/Tomato mice without tooth extraction, Gli1/Tomato-positive cells were barely detected in the periodontal ligament. However, there are no Gli1/Tomato-positive cells on the surface of alveolar bone. At 1 day after tooth extraction, the periodontal ligament-like connective tissue was found on the surface of alveolar bone around tooth socket. At 3 days, although these inflammatory cells were disappeared, numerous Gli1/Tomato-positive cells harboring proliferating cell nuclear antigen were found in the tooth socket. After 7 days, Osteopontin-positive bone matrix was formed in the tooth socket apart from the original alveolar bone. There were Gli1/Tomato-positive cells expressing Osterix, a marker of osteoblast, on the surface of newly-formed bone. These results suggest that Gli1-positive cells in the periodontal ligament proliferate after tooth extraction and might contribute to socket healing.

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

1-P1-PM16 リン酸化多糖体/ β TCP 混合新規骨補填材によるインプラント周囲骨再生について

○久保田恵亮^{1,2}, 横山 敦郎¹, 網塚 憲生², 長谷川智香²

¹北大 院歯 口腔機能補綴, ²北大 院歯 硬組織発生

【目的】インプラント治療時の骨移植では、自家骨のみならず β リン酸三カルシウム (β TCP) 製材などの人工骨補填材も用いられている。本研究では、リン酸化プルラン (PPL) と β TCP を用いた新規骨補填材によるインプラント周囲骨再生について組織学的に検索することを目的とした。

【方法】生後 10 週齢雄 Wistar ラット脛骨に PPL, β TCP, PPL + β TCP を填入後、チタンインプラントを埋入した。なお、control 群はインプラントのみ埋入した。埋入 1, 2, および 4 週間後にインプラント周囲骨組織の μ CT 撮影を行った後、HE 染色, TRAP 染色, 各種免疫組織化学を行うとともに、一部サンプルから total RNA を抽出し各種遺伝子発現を real-time PCR 法にて解析した。

【結果と考察】埋入 1 週後では全ての群でインプラント周囲に細い海綿状の新生骨が認められた。新生骨や β TCP の表面が広範囲にわたって ALP 陽性骨芽細胞, 前骨芽細胞で覆われる一方, TRAP/cathepsin K 陽性破骨細胞は、インプラント体からやや離れた新生骨および β TCP の表面のみで観察された。埋入 2 週以後になると、control 群では経時的にインプラント周囲の新生骨が減少したが、PPL, β TCP, PPL + β TCP 群では、PPL や β TCP 上に新生骨が認められ、これら新生骨の連結性が維持されていた。また、埋入 4 週後の PPL, PPL + β TCP 群では、control 群と比較して *Alp*, *Trap* 遺伝子、ならびに、細胞接着に関わる *Integrin α v*, *Integrin β 3* 遺伝子の発現が有意に上昇していた。

以上より、リン酸化プルランは、インプラント周囲の骨欠損部で新生骨の足場として機能するとともに、インプラント表面の骨を支持する骨梁を形成するのに役立っていることが推察された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Bone regeneration around the implant with the novel bone substitute mixed with phosphorylated pullulan and beta-tricalcium phosphate

○Kubota K^{1,2}, Yokoyama A¹, Amizuka N², Hasegawa T²

¹Dept Oral Funct Prosthodont, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ²Dept Deve Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

This study aimed to evaluate the effect of a mixed novel bone substitute of phosphorylated pullulan (PPL) and beta-tricalcium phosphate (β TCP) on bone regeneration around implant. The implant with PPL, β -TCP, and PPL + β -TCP or without bone substitute (control group) was placed in the bone cavity, and then, the regenerated bone tissues around the implant was histologically examined at 1, 2, and 4 weeks after the surgery.

One week after the operation, newly formed bones were found around the implant in all groups. ALP-positive osteoblastic cells and TRAP-positive osteoclasts were located on both bone and β TCP surfaces. However, after 2- and 4-weeks of operation, the new bones around the implant was chronologically decreased in the control group. In contrast, the β TCP-, PPL-, and PPL + β TCP groups remained the increased bone volume and trabecular connectivity. Real-time PCR analysis showed the high expression levels of *Alp*, *Trap*, *Integrin α v* and *Integrin β 3* in PPL and PPL + β -TCP groups compared to the control group.

Taken together, it seems likely that PPL would play a pivotal role in maintaining the volume of regenerated bone and the trabecular connectivity around the implant.

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

1-P1-PM17 味蕾オルガノイドにおける Mash1 発現細胞系譜の検索

○松山 佳永, 片岡 真司, 豊野 孝, 瀬田 祐司
九歯大 解剖

味蕾を構成する味細胞は基底細胞から分化する。転写因子 Mash1 が成体味蕾の一部の味細胞と基底細胞で発現することが明らかとなっているが、Mash1 が分化に関与する細胞種は未だ不明である。近年、幹細胞を分化誘導させ三次元培養することで、生体内の組織に極めて類似した立体構造体、オルガノイドを作製する方法が開発され、研究対象として広く活用されている。味蕾オルガノイドの培養過程は、味蕾の発生過程と類似しており、本培養法により味細胞の発生、分化を *ex vivo* で解析可能となっている。そこで、本研究では、味細胞の分化過程における Mash1 の機能の詳細を解明することを目的として、オルガノイド培養法と新生仔マウスを用いて Mash1 発現細胞系譜を追跡した。

Mash1^{CreERT2}/CAG-floxed tdTomato マウス (M/td マウス) と、Mash1^{CreERT2}/CAG-floxed neo-diphtheria toxin A マウス (M/DTA マウス) を使用した。M/td マウスでは、Tamoxifen 処理により Mash1 発現細胞が tdTomato を発現する。M/DTA マウスでは、Tamoxifen 処理により Mash1 発現細胞に細胞死が誘導される。雌雄の M/td マウスを交配後、妊娠後期の雌に Tamoxifen を経口投与し、生後 7 日の新生仔マウスの舌から凍結切片を作製した。また、M/td マウスおよび M/DTA マウスから味蕾オルガノイドを作製し、培養初日に 4-Hydroxytamoxifen を培地に添加することにより、Mash1 発現細胞に tdTomato の発現または細胞死を誘導させた。味蕾オルガノイドにおいて、Mash1 発現細胞の多くは III 型細胞マーカー (AADC, Car4) を発現し、一部は II 型細胞マーカー (PLCβ2, gustducin) を発現していた。この結果は新生仔マウスを用いた *in vivo* の結果と一致していた。さらに、DTA により Mash1 発現細胞を欠失した味蕾オルガノイドでは II 型細胞と III 型細胞の生成が有意に抑制された。以上の結果から、Mash1 は III 型細胞に加え、一部の II 型細胞の分化に関わる可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Mash1 cell lineage analysis in taste bud organoid

○Matsuyama K, Kataoka S, Toyono T, Seta Y
Div Anat, Kyushu Dent Univ

Taste buds are composed of several distinct type cells. According to previous studies, we demonstrated that Mash1, a transcription factor, is expressed in subsets of mature taste cells and basal cells in adult taste buds. However, it remains unclear whether Mash1 regulates the differentiation of both type II and III or only type III taste cells. In this study, we explored the cell lineage of Mash1-expressing cells utilizing taste bud organoid.

Using newborn mice of Mash1^{CreERT2}/CAG-floxed neo-tdTomato mouse line, we observed many of tdTomato + cells which coexpressed type III cell markers and a few of them coexpressed type II cell markers in initially developed taste buds. To trace Mash1-expressing cell lineage *ex vivo*, taste bud organoids were cultured from the transgenic mice. Immunostaining of organoids showed that tdTomato + cells coexpressed Car4 and a subset of them coexpressed gustducin. Furthermore, we made taste bud organoids from Mash1^{CreERT2}/CAG-floxed DTA mice. And we found out that the generation of Car4 + and gustducin + cells were significantly suppressed in organoids lacking Mash1-expressing cells by DTA. These results suggest that Mash1 may play a role in the differentiation of gustducin-expressing type II taste cells in addition to type III taste cells.

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

1-P1-PM18 歯の欠損が口腔周囲軟組織に与える影響

○高木 貴博, 山本 将仁, 渡辺 元次, 関谷 紗世, 山本悠太郎, 金平智恵美, 廣内 英智,
松永 智, 阿部 伸一

東歯大 解剖

口腔周囲軟組織は、他の口腔・咽頭器官と協調しながら咀嚼・嚥下機能を担っており、これらの機能を健康に保つためには口腔周囲軟組織の形態維持が不可欠である。近年、中枢神経系の疾患が口腔周囲軟組織の形態を著しく変化させることが分かってきた。しかしながら、上記疾患の既往がなくとも、歯の欠損が口腔周囲軟組織の形態を変化させる可能性がある。そこで今回我々は、歯と協調して働く器官である口唇に着目し、歯の欠損が口唇形態を変化させる可能性について検索を試みた。試料として、15週齢のC57BL6Jマウス20体を用いた。門歯欠損が口腔周囲軟組織に与える影響を確認するため、門歯抜歯群と非抜歯群の2群に分けた。門歯の抜歯をMicro CTにて判定後、マウスの摂食時間を計測した。その後2か月間の飼育を経て安楽死させ、マウス頭蓋から上唇を含めた周囲組織を採取し各種解析をおこなった。その結果、門歯抜歯群の摂食時間は非抜歯群と比較すると有意に増加していた。門歯抜歯群の上唇形態は、非抜歯群のそれと比較すると形態変化が大きく、上唇の粘膜上皮と粘膜固有層が肥厚していた。上唇のプロテオーム解析を行った結果、Keratin 6a(Krt6a), Keratin 6b(Krt6b), Keratin 16(Krt16), S100A8/9が、非抜歯群と比較すると抜歯群で有意に増加していた。また、免疫組織化学的染色の結果から、これらのタンパクが非抜歯群と比較して抜歯群において上唇の粘膜側に高く発現していた。Krt6, Keratin 16, S100A8/9は上皮の炎症時に認められるマーカーであることから、抜歯群の上唇粘膜に炎症が起きていることが明らかになった。以上の結果から、歯の欠損から摂食時間が長くなり、上唇に餌が常に触れることから同部に炎症が起き、最終的に上唇粘膜が肥厚することが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Alteration of oral and perioral soft tissues in incisor tooth-deficient mice

○Takagi T, Yamamoto M, Watanabe G, Sekiya S, Yamamoto Y, Kanehira C, Hirouchi H,
Matunaga S, Abe S

Div Anat, Tokyo Dent Coll

Oral and perioral soft tissues act in coordination with other oral and pharyngeal organs to facilitate masticatory and swallowing movements. It is essential for these tissues to maintain their morphology. It has remained unclear whether tooth loss can alter the morphology of these tissues. The present study using C57BL6J mice (aged 15 weeks) was conducted to clarify whether tooth loss can alter lip morphology. A murine model of incisor tooth loss was established by extraction of an incisor tooth. The upper lip was harvested from each mouse, and various measurements were then performed. Body weight and food intake were lower in the tooth loss group than in the non-extraction control group. The upper lip showed a greater degree of morphological variation in the mice lacking the incisor than in the non-extraction group, with thickening of the mucosal epithelium and mucosal lamina propria. Proteomic analysis and immunohistochemical staining of the upper lip showed that the extraction group had greater expression of keratin 6a/b (Krt6a/b), keratin 16 (Krt16), and S100A8/9 than the non-extraction group. This appeared to be due to thickening of the mucosal epithelium and mucosal lamina propria of the lip in response to lack of the incisor.

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

1-P1-PM19 乳歯幹細胞の細胞外小胞を介した全身性エリテマトーデスの新規治療メカニズムの解明

○園田聡一郎, 山座 孝義

九大 院歯 分子口腔解剖

【目的】乳歯幹細胞 (SHED) による移植治療は MRL/*lpr* マウスにおける全身性エリテマトーデス (SLE) 様症状に対する有効性が知られている。しかし、そのメカニズムには不明な点が残されている。本研究では SHED の放出する細胞外小胞 (SHED-EVs) に着目し、MRL/*lpr* マウスにおける SLE 様症状に対する治療効果およびそのメカニズムを解析した。【方法】SHED-EVs は SHED の培養上清から単離した。未処理の SHED-EVs と RNase 処理を行なった SHED-EVs を MRL/*lpr* マウスに経静脈的に投与し、SLE 様症状の治療効果の比較解析を行なった。また、SHED-EVs 移植後の MRL/*lpr* マウスの骨髄間葉系幹細胞 (BMMSCs) を単離し、造血ニッチ形成能と免疫調節能、テロメラーゼ活性、SLE 様症状の治療効果を解析した。【結果】SHED-EVs 移植により MRL/*lpr* マウスの SLE 様症状が改善し、宿主 BMMSCs の *Tert* 遺伝子発現を促進し、テロメラーゼ活性を正に制御することで、造血ニッチ形成および免疫調節能を改善することが示された。RNase 処理を施した SHED-EVs の移植では SHED 移植による宿主 BMMSCs のテロメラーゼ活性の亢進はみられず、SLE 様症状に対する治療効果が抑制された。SHED-EVs 移植後の宿主 BMMSCs を MRL/*lpr* マウスへ移植すると SLE 様症状が改善することが示された。【考察】本研究によって、SHED-EVs が内包する RNA 成分によるテロメラーゼ活性の制御を介して宿主 BMMSCs の機能を回復し、SLE 様症状を改善する事が示された。SHED による細胞移植治療における細胞外小胞を介した新規メカニズムを明らかにした。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Novel therapeutic mechanism of extracellular vesicles-mediated deciduous tooth pulp stem cell-based therapy for systemic lupus erythematosus

○Sonoda S, Yamaza T

Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Therapeutic efficacy of systemic transplantation of stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) for systemic lupus erythematosus (SLE) is reported. However, the mechanisms underlying the SHED-based therapy remain unclear. In this study, we examined therapeutic function of SHED-releasing extracellular vesicles (SHED-EVs) on SLE-like disorders in MRL/*lpr* mice. SHED-EVs were isolated from the culture supernatant of SHED. Systemic administration of SHED-EVs ameliorated SLE-like disorders in MRL/*lpr* mice via improving activity of hematopoietic niche formation and immunoregulation of recipient BMMSCs by rescuing *Tert* associated telomerase activity. The secondary transplantation of recipient BMMSCs ameliorated SLE-like symptoms of MRL/*lpr* mice. RNase treatment depleted RNAs within SHED-EVs attenuated the therapeutic benefit in MRL/*lpr*. These results indicated that RNAs within SHED-EVs ameliorated SLE-like disorders in MRL/*lpr* mice by improving recipient BMMSCs functions. The present study reveals the novel mechanism of SHED-based therapy.

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

1-P1-PM20 M細胞は眼周辺領域における免疫監視に寄与する

○大谷 祐貴, 木村 俊介, 長谷 耕二

慶應大 薬 生化

外部へと露出した眼表面は粘膜免疫システムによって防御されている。異物の排除には涙液中のIgA抗体が主に働く。その産生は抗原が粘膜上皮を通過し粘膜関連リンパ組織へと認識されることで開始する。M細胞は粘膜上皮を構成する上皮細胞であり、物質取り込みを担う細胞である。眼表面と鼻腔をつなぐ鼻涙管の涙嚢には涙道関連リンパ組織 (TALT) が存在するが、この部位におけるM細胞の研究は進んでいない。本研究ではTALTにおけるM細胞の分子マーカーと分化機構を解析し、免疫応答への関与を検証した。マウス顔面部から鼻涙管を露出しホルマウント免疫染色を行った結果、鼻涙管の眼側入り口近傍の涙嚢にB細胞の集積を認めた。切片作製後ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、この部位にTALTが存在することを確認した。続いて、複数の腸管M細胞マーカーによる免疫組織染色を行い、GP2, Sox8, Tnfaip2陽性細胞がTALT濾胞関連上皮に存在することを見出した。この細胞は点眼した微粒子を取り込むこと、腸管や呼吸器におけるM細胞誘導因子であるRANKLの腹腔内投与により増加したことから、TALT M細胞であると結論付けた。続いてOVA抗原とコレラ毒素を点眼し免疫応答を誘導した結果、RANKL投与群では涙液中のOVA特異的IgA抗体が増加していた。これはTALT M細胞の増加が眼部の免疫応答を活性化させる可能性を示唆する。M細胞は腸管と呼吸器において解析が行われてきた。これらの組織は単層上皮で覆われる。一方で、TALTを覆うのは重層扁平上皮である。本研究からRANKLのM細胞分化誘導能は上皮の形状に関わらず共通すること、さらに、粘膜上の異物がM細胞を介して重層上皮を越えて取り込まれる機構が明らかになった。本研究の成果を応用することで、点眼による粘膜免疫応答の活性化を利用したワクチン開発につながる可能性がある。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

M cells contribute to the immune surveillance in the eye region

○Oya Y, Kimura S, Hase K

Div Biochem, Keio Univ Grad Sch Pharm

The eye surface is covered by tears containing soluble IgA that eliminates foreign antigens. M cells reside in the follicle-associated epithelium (FAE) of mucosa-associated lymphoid tissues and take up antigens to produce antigen-specific IgA. Tear duct-associated lymphoid tissue (TALT) is in the lacrimal sac in the nasolacrimal tract. The FAE of TALT is a robust stratified squamous epithelium consisting of three to four layers. It has been unclear how mucosal antigens cross the stratified squamous epithelium and activate the immune response. In this study, we found GP2 + Sox8 + Tnfaip2 + cells in the FAE of the TALT. These cells efficiently took eye-instilled microbeads and were induced by the administration of RANKL, a potent inducer for M cells of the intestinal and respiratory tracts. We, therefore, concluded that GP2 + Sox8 + Tnfaip2 + cells are M cells in the TALT. Furthermore, RANKL administration increased ovalbumin (OVA) -specific IgA in the tear of mice immunized with OVA and cholera toxin. This study demonstrated that luminal antigens cross stratified epithelium via M cells and the induction of M cells in the TALT by RANKL enhance mucosal immune responses, which result in the increased production of antigen-specific IgA in the tear.

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

1-P1-PM21 ラット大唾液腺介在部における線維芽細胞と筋上皮細胞の関係

○小野澤 豪^{1,2}, 長坂 新¹, 坂東 康彦¹, 崎山 浩司¹, 天野 修¹

¹明海大 院歯 解剖, ²明海大 院歯 口腔外科

唾液腺が唾液分泌機能を発揮するためには、周囲の結合組織と腺房や導管の連携が必須であり、これらの解明は、唾液腺の構造と働きを理解する上で必要不可欠である。しかし、実質や間質の神経、血管分布に比べ、間質の本体である線維芽細胞の分布や形態についての研究はほとんどない。本研究では、ラット大唾液腺について、線維芽細胞に特異的に発現するHSP47を用いた免疫組織化学的染色を行い、線維芽細胞の局在と形態について詳細に解析した。ウイスター系8週雄ラットを灌流固定し、3大唾液腺及び膵臓を摘出、その後、厚さ20 μ mの切片を作成し、抗HSP47抗体を用いて免疫染色を行い、蛍光顕微鏡または共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いて観察を行った。比較のため、HE染色と、筋上皮細胞のマーカーである α 平滑筋アクチンに対する抗体を用いた二重免疫染色も行なった。3大唾液腺において、小葉間線維芽細胞はサイズが大きく、小葉内線維芽細胞とは明瞭に区別できた。小葉内線維芽細胞は小型で疎に散在していたが、介在部導管を取り巻くように突起を伸ばし、筋上皮細胞のすぐ外側に線維芽細胞による鞘状の集団が観察された。しかし、筋上皮が無い膵臓外分泌部の介在部導管では同様のHSP47陽性線維芽細胞の集団は認められなかった。以上の結果から、ラット大唾液腺の介在部導管周囲には、線維芽細胞による鞘状の構造物（介在部導管周囲鞘）が特異的に存在し、縦走する筋上皮細胞の突起も認められることから、筋上皮による導管収縮の回復に関与すると考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Specific localization of fibroblast and myoepithelial cells in the intercalated duct of rat major salivary glands

○Onozawa G^{1,2}, Nagasaka A¹, Bando Y¹, Sakiyama K¹, Amano O¹

¹Div Anat, Meikai Univ Grad Sch Dent, ²Dept Maxillofac Oral Surg, Meikai Univ Grad Sch Dent

The present study investigated localization and morphology of fibroblasts in adult rat major salivary glands immunohistochemically using 47kDa heat shock protein (Hsp47) as a specific marker of fibroblasts. At the intercalated ducts in parotid, sublingual, and submandibular glands, Hsp47-immunopositive fibroblasts with long processes elongating along the duct were observed. Fibroblastic body and processes were tightly approximated with basal surface of duct cells and myoepithelial cells. These findings were also observed in electron microscopy. However, such specific localization of fibroblasts was not found in the exocrine pancreas. These results suggest that "peri-intercalated duct sheath of fibroblasts" exists in rat major salivary glands and plays a role in recovery of constricted intercalated ducts.

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

1-P1-PM22 矯正歯根吸収のリチウムによる抑制作用における硝子様変性と破歯細胞の関与

○上田悠依華¹, 森石 武史², 佛坂 由可³, 佛坂 齊社¹

¹長大 院医歯薬 矯正, ²長大 院医歯薬 細胞生物, ³長大 院医歯薬 口腔腫瘍治療

【目的】歯根吸収は矯正治療や再植歯における主な副作用の一つだが、その吸収と修復過程の詳細は未解明であり、歯根吸収の予測と回避は難しいのが現状である。最近、塩化リチウムが矯正力負荷時の歯根吸収に抑制的に働くことが報告されたが、そのメカニズムは不明である。

本研究では、歯根吸収抑制に働くりチウムのメカニズムとして、歯根膜周囲組織と破歯細胞とが共に関与しているとの仮説を立て、硝子様変性（虚血性細胞死）と破歯細胞の発現を検討した。

【方法】ラット雌（10週齢）の上顎第1臼歯-切歯間に矯正装置（コイルスプリング）を装着し、上顎第1臼歯を近心に牽引した。ラットに塩化リチウムを0.64 mM/kg 毎日腹腔内投与し、3, 7, 14日に μ CTを撮影した。灌流固定後、組織標本を作製し、HE, TUNELおよびTRAP染色を行い、上顎第1臼歯遠心頬側根歯頸部1/3の近心面を評価した。

【結果と考察】矯正力負荷後14日目で顕著な歯根吸収が認められた。相当部位で7日目に破歯細胞が多く観察され、3日目に硝子様変性が認められた。さらに1日目にTUNEL陽性細胞が多く観察され、3日目に少なくなり硝子様変性に变化していく様子が観察された。塩化リチウムを投与した場合、全実験期間を通じて破骨細胞数と破歯細胞数は減少し、3日目に見られた硝子様変性量とTUNEL陽性細胞数、および14日目の歯根吸収量もそれぞれ対照群と比較して顕著に減少した。

【結論】塩化リチウムは、矯正力による硝子様変性、歯根膜細胞の細胞死、および破歯細胞を抑制した。

即ち、リチウムは歯根膜細胞死である硝子様変性を抑制し、引き続き破歯細胞の出現が抑制されることで、歯根吸収を抑制することが示された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Involvement of hyalinization and odontoclasts in the inhibitory effect of lithium on orthodontic root resorption

○Ueda Y¹, Moriishi T², Hotokezaka Y³, Hotokezaka H¹

¹Dept Orthod Dentfac Orthop, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, ²Dept Cell Biol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, ³Dept Clin Oral Oncol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Orthodontically induced root resorption (OIRR) is one of the main side effects of orthodontic treatment. Recently, it has been reported that lithium suppressed OIRR in rats. We investigated the changes in the periodontal tissue and in the surrounding alveolar bone focusing on the appearance of ischemic cell death, hyalinization, osteoclasts, and odontoclasts.

A 25 g closed coil spring was set between the maxillary first molar and the incisor of a 10-week-old female rats to move the maxillary first molar mesially. 0.64 mM/kg lithium chloride (LiCl) were injected intraperitoneally to rats every 24 hours and micro-computed tomography was collected on days 1, 2, 3, 7, and 14 and tissue specimens were stained with HE, TRAP, and TUNEL.

On day 14, severe OIRR was observed in the control, which was clearly suppressed by the administration of LiCl. The appearance of hyalinization, osteoclasts, odontoclasts and TUNEL positive cells at the compression area due to orthodontic force in control group were significantly suppressed by the administration of LiCl. These degenerative changes were significantly suppressed by LiCl.

Lithium has been suggested to reduce OIRR by suppressing periodontal ligament cell death, orthodontic hyalinization, and formation of odontoclasts through the inhibitory effect on GSK-3 β .

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

1-P1-PM23 RANKL/OPG 比は損傷した歯髄における破歯細胞形成を調節する

○西田 大輔¹, 荒井 敦², 堀部 寛治¹, 中道 裕子³, 細矢 明宏⁴, 中村 浩彰¹,
小林 泰浩³, 宇田川信之⁵, 溝口 利英⁶

¹松歯大 口腔解剖, ²松歯大 矯正, ³松歯大 総歯医研, ⁴北医療大 歯 組織, ⁵松歯大 口腔生化, ⁶東歯大 口科研セ

破骨細胞は、単球・マクロファージ系の前駆細胞が分化した多核の骨吸収細胞である。破骨細胞の形成は、破骨細胞分化因子である、receptor activator NF- κ B ligand (RANKL) とそのデコイ受容体である、osteoprotegerin (OPG) の相対比によって厳密に調節されている。一方、歯を吸収する細胞は、破歯細胞と呼ばれる。破歯細胞は、正常な歯髄には存在しないが、外傷などの炎症性歯髄環境で誘導され、歯の内部吸収を引き起こすことが知られている。破歯細胞の特性と調節因子は、破骨細胞と同様であると考えられているが、歯髄の微小環境における RANKL/OPG の相対比が、破歯細胞分化の重要な調節因子であるかについてはよくわかっていない。そこで本研究は、OPG 欠損 (KO) マウスを用いて、歯髄組織の破歯細胞調節における OPG の役割を明らかにすることを目的とした。マウス歯髄における破骨細胞調節因子を確認したところ、正常時の歯髄組織では、RANKL、および OPG が検出され、OPG の発現は骨髄と比較して有意に高値を示した。このことから、歯髄では OPG が、破歯細胞形成を負に調節することが予想された。しかしながら、破歯細胞は、野生型と同様に OPG-KO マウスの歯髄組織においても認められなかった。他方で、外傷性損傷により、歯髄内に破歯細胞が誘導されることが報告されている。そこで、外傷性損傷によって誘導される破歯細胞の形成における OPG の関与を検討した。外傷性損傷は、野生型、OPG-KO マウス共に歯髄組織に破歯細胞を誘導したが、その数は OPG-KO マウスで顕著に増加した。この時、RANKL の発現は、損傷を受けていないコントロールよりも有意に高く、OPG は低下傾向を示した。その結果、歯髄の RANKL/OPG の相対比は増加した。以上の結果から、歯髄における OPG は、正常時には破歯細胞の形成抑制に関与しないが、外傷性損傷によって誘導される破歯細胞の形成を抑制することが明らかになった。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

RANKL/OPG ratio regulates odontoclastogenesis in damaged dental pulp

○Nishida D¹, Arai A², Horibe K¹, Nakamichi Y³, Hosoya A⁴, Nakamura H¹, Kobayashi Y³,
Udagawa N⁵, Mizoguchi T⁶

¹Dept Oral Anat, Matsumoto Dent Univ, ²Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ, ³Inst for Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, ⁴Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ⁵Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ, ⁶Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll

Osteoclasts are bone-resorbing cells, whose differentiation is tightly regulated by the relative ratio of the differentiation factor RANKL and its decoy receptor, OPG. In contrast, tooth-resorbing cells are termed odontoclasts. Although odontoclasts are not observed in healthy dental pulp (DP), they are known to be induced in an inflammatory environment. The structural features and regulators of odontoclasts are similar to those of osteoclasts; however, it remains unclear whether the RANKL/OPG ratio is a key regulatory factor for odontoclastic differentiation in DP. We examined the regulation of odontoclastogenesis in DP using OPG-knock-out (KO) mice. Both RANKL and OPG were detectable in DP of wild-type (WT) mice, but OPG was dominantly expressed. The high OPG expression was expected to have a negative regulatory effect on odontoclastogenesis, but odontoclasts were not detected in the DP of OPG-KO mice. In contrast, damages induced odontoclasts in DP of WT mice and their numbers significantly increased in OPG-KO mice. The relative ratio of RANKL/OPG in the damaged DP was significantly higher than that in the undamaged control. This suggested that OPG is not required to inhibit pulpal odontoclastogenesis in the healthy state. On the other hand, OPG exhibited inhibitory effects on odontoclastogenesis in the damaged DP.

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

1-P1-PM24 細胞外マトリックスを用いた交互積層細胞コート法による三次元肺組織モデルの構築

○赤松由佳子^{1,2}, 住友 倫子¹, 川端 重忠¹

¹阪大 院歯 口腔細菌, ²阪大 院歯 障害歯

【目的】肺は生命機能の維持に必要な不可欠な呼吸の場であり、吸気とともに侵入する様々な病原体に対して、上皮細胞間接着による物理的バリアやムチン粘液による化学的バリアにより防御能を示す。病原体とヒト肺組織の相互作用の解析は、肺炎病態形成機構を理解する上で重要である。従来の肺炎病態に関する研究の多くは、動物モデルや二次元培養肺組織モデルを用いて検討しているが、感染宿主特異性やヒト生体応答を再現できないという問題点がある。交互積層 (LbL) 細胞コート法は、細胞外マトリックス成分であるフィブロネクチンとゼラチンを細胞膜表面に交互に積層することにより、細胞表面にナノ薄膜を形成し、細胞間の接着や足場の形成を果たすことで、三次元積層組織の構築を可能とする技術である。本研究では、LbL法を用いて三次元肺組織モデルを構築し、ヒト肺組織との類似性を評価した。

【方法】ヒト正常肺線維芽細胞に、LbL法を用いてフィブロネクチンおよびゼラチンナノ薄膜を形成させ、三次元肺線維芽積層体を構築した。この三次元積層体上に、ヒト肺胞上皮細胞 (A549) もしくはヒト細気管支上皮細胞 (Calu-3) を積層培養することで三次元肺組織モデルを構築した。構築した組織モデルはヘマトキシリン-エオジン染色と免疫蛍光染色により組織構造を評価した。

【結果】LbL細胞コート法により構築した三次元肺組織は、ヒト肺組織を模倣した上皮極性を有する連続した組織体であることが確認された。また、構築した組織モデルにおいて、上皮-線維芽細胞間に基底膜タンパク質であるラミニン、上皮-上皮間に細胞間接着因子である E-カドヘリン、および ZO-1 の局在を認めた。

【結論】LbL法により、ヒト生体を模した上皮構造を有する肺組織モデルの構築に成功した。作製した三次元肺組織モデルは、肺炎病態形成の評価に有用な感染モデルへの応用が可能であると考えられた。

共同研究者:赤木隆美, 明石満 (阪大 院生命)

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Fabrication of human three-dimensional lung tissue models using layer-by-layer cell coating technique

○Akamatsu Y^{1,2}, Sumitomo T¹, Kawabata S¹

¹Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, ²Div Spec Needs Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent

Three-dimensional (3D) in vitro lung tissue models were recently developed to investigate biological responses. To elucidate human lung pathology mechanisms, we constructed new lung tissue models using a layer-by-layer (LbL) technique. Human 3D lung tissue models were constructed with an established cell coating technique, which employs cell surface coating with LbL assembled extracellular matrix film. Human primary pulmonary fibroblast (HPF) cells were coated with a fibronectin-gelatin nanofilm, then seeded into cell culture inserts. After one day of incubation, human alveolar epithelial carcinoma (A549) and airway epithelial adenocarcinoma (Calu-3) cell lines were separately seeded into dishes with multilayered HPF cells, and cultured for 7 days. Hematoxylin-eosin staining indicated successful construction of a 3D lung tissue models with the epithelial-fibroblast layers showing uniform thickness after 7-day cultures. Immunofluorescence staining revealed E-cadherin and ZO-1 localization at apical epithelial cell-cell junctions, and laminin located in the basement membrane. Our data indicate that the 3D lung tissue models using LbL technique can be rapidly fabricated, and show a structure similar to that of human lung tissue with epithelial polarity.

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

1-P1-PM25 ブラジル産プロポリスによる抗 CD3 刺激脾細胞の IL-2 産生促進作用の解析

○鶴田はねみ¹, 神谷 真子², 池野久美子³, 上野 恭平⁴, 梅村 直己⁴, 高山 英次⁴,
川木 晴美⁵, 中村源次郎³, 二階堂 徹¹, 近藤 信夫⁴

¹朝日大 歯 保存, ²朝日大 経営 経営, ³株式会社 秋田屋本店 研究開発, ⁴朝日大 歯 口腔生化, ⁵朝日大 歯 化学

ブラジル産プロポリス (BP) は, 抗炎症作用を持つことから古くから民間療法に用いられてきたが, 免疫系にどのような作用を及ぼすのか実態の詳細については報告されていない. 本研究ではマウス抗 CD3 抗体刺激脾細胞のサイトカイン産生能に対する BP の作用を検討した. その結果, 処理後 48 時間の刺激脾細胞の viability を低下させない希釈濃度の BP により, IL-2 産生は顕著に, IL-4 は有意に促進されるのに対して, IFN- γ , IL-6, IL-17 産生は抑制された. 一方, IL-12 および IL-10 産生に有意な変化は見られなかった. BP の主成分である artemillin C (12.5 μ M) を添加すると上記とほぼ同様のサイトカイン産生の変化が観察され, この物質が BP によるサイトカイン制御の中心的役割を担うことが示唆された. また artemillin C により活性化される Ca²⁺ 透過性陽イオンチャンネル TRPA1 に対する阻害剤 HC030031 により, artemillin C が引き起こす IL-2 および IL-4 産生が有意に抑制された. IL-2 発現の経時的な観察では, 抗 CD3 抗体刺激脾細胞の IL-2 mRNA 発現が刺激後 6 時間で顕著に上昇し, ELISA での IL-2 産生は 24 時間後に発現のピークが観察された. artemillin C 添加群では, 6 時間後の IL-2 mRNA 発現上昇は抑えられており, 24 時間後に顕著な mRNA 発現上昇が引き起こされ, ELISA での IL-2 産生は 48 時間後に最大の発現上昇が観察された. 以上の事実から, BP による活性化 T リンパ球の制御には artemillin C が重要な役割を担っており, その制御はサイトカインの種類により異なること. さらに IL-2 や IL-4 などに対する artemillin C の促進作用は, TRPA1 を介し, 特異的に転写レベルで引き起こされることが示唆された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Mechanism of enhanced production of IL-2 from anti CD3-stimulated mouse spleen cells by Brazilian propolis

○Tsuruta H¹, Kamiya M², Ikeno K³, Ueno K⁴, Umemura N⁴, Takayama E⁴, Kawaki H⁵,
Nakamura G³, Nikaido T¹, Kondoh N⁴

¹Dept Oper Dent, Asahi Univ Sch Dent, ²Dept Business Admin, Asahi Univ Sch Manage, ³AKITAYAHONTEN CO LTD R&D Dept, ⁴Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, ⁵Dept Chem, Asahi Univ Sch Dent

Brazilian green propolis (BP) is a chemical complex exerting anti inflammatory effects in, e.g, folk remedies. In the study, we attempt to examine the effects of BP and the component upon cytokine productions of anti CD3-antibody-stimulated murine spleen cells, and elucidate the mechanisms. Our results demonstrated the production of IL-2 was markedly and IL-4 was significantly enhanced, by contrast, the production of IFN- γ , IL-6 and IL-17 were markedly reduced, in the highly viable stimulated spleen cells treated with BP for 48 hours. While, the production of IL-12 and IL-10 was not significantly affected in the cells. These effects were also reproduced in the cells treated with artemillin C (12.5 microM), a major component of BP. The enhancement of IL-2 production by artemillin C was significantly alleviated by adding 10 nM of HC030031, an antagonist of TRPA1 Ca²⁺ channel, suggesting the enhancement of the cytokine production by artemillin C may be mediated by Ca²⁺ influx. These results suggest that artemillin C is an important regulator of activated T lymphocytes and specifically augmented the expression of IL-2 and IL-4 via Ca²⁺-permeable cation channel, TRPA1, at the transcriptional levels.

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

1-P1-PM26 Artepillin C および PPAR- γ 阻害, GW9662 による抗 CD3 抗体刺激マウス脾臓細胞のサイトカイン産生の修復

○高橋 萌¹, Kamiya Masako³, Kawaki Harumi², Ikeno Kumiko⁴, Takayama Eiji², Nakamura Genjiro⁴, Umemura Naoki², Ueno Kyohei², Muramatsu Yasunori¹, Kondoh Nobuo²
¹朝日大 歯 口外, ²朝日大 歯 口腔生化, ³朝日大 営 化学, ⁴株式会社 秋田屋本店 研究開発

ブラジル産プロポリス (BP) の免疫修飾作用はその主成分である artepillin C によって T リンパ球が制御されており, そのサイトカイン発現調節についての知見を我々は本学会で報告している (鶴田はねみ, 他). 本研究では, artepillin C の受容体の一つと考えられている peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ の阻害物質として知られている, GW9662 を用いて, それが単独または artepillin C との共存下において, 抗 CD3 抗体刺激脾臓細胞のサイトカイン産生能にどのような影響をおよぼすか検討した. その結果, 刺激脾臓細胞の IL-2 産生は, artepillin C (12.5 μ M) 存在下で顕著に促進され, 同様に IL-4 産生は有意に, また IL-10 産生も促進される傾向が観られた. 大変興味深いことに, これらサイトカイン産生は GW9662 (10 μ M) 存在下で有意に促進され, さらに artepillin C との共存下では相乗的に促進された. 一方, IFN- γ , IL-6, IL-17 産生は artepillin C (12.5 μ M) または GW9662 (10 μ M) 存在下で抑制され, これらの共存下では効果的に抑制された. 以上の事実から, artepillin C および GW9662 は協調的に刺激脾臓細胞の異なるサイトカイン産生を促進または抑制することが示され, これらの物質が PPAR- γ を介した特異的な機構により, 多様なサイトカイン制御に関与する可能性が示された. 現在, その調整メカニズムについて解析を進めると共に, artepillin C によって引き起こされるサイトカイン調整の細胞生物学的意義についても検討を進めている.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Modification of cytokine production in anti CD3 antibody-stimulated mouse spleen cells treated with Artepillin C and PPAR- γ antagonist, GW9662

○Takahashi M¹, Kamiya M³, Kawaki H², Ikeno K⁴, Takayama E², Nakamura G⁴, Umemura N², Ueno K², Muramatsu Y¹, Kondoh N²

¹Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent, ²Dept Oral Biochem Div Oral Struct, Funct Dev Asahi Univ Sch Dent, ³Dept Chem, Asahi Univ Sch Business Admin, ⁴AKITAYAHONTEN CO LTD R&D Dept

We have already reported that immune-modulatory effects upon activated T cells of Brazilian green propolis (BP) is mainly mediated by artepillin C, a major component of BP (Tsuruta H, et al). In this study, we used an antagonist, GW9662, against peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ , which is known as a receptor of artepillin C, and examined the direct or artepillin C-mediated indirect effects upon cytokine productions of anti CD3-antibody-stimulated mouse spleen cells. Our results demonstrated that the production of IL-2 was markedly, and the production of IL-4 and IL-10 was significantly enhanced by artepillin C (12.5 μ M). Interestingly, production of these cytokines was also enhanced by GW9662 (10 μ M), and further enhanced by the co-treatment of GW9662 and artepillin C. On the other hand, the production of IFN- γ , IL-6 and IL-17 was reduced by artepillin C and/or GW9662 treatments. These results demonstrate that artepillin C and GW9662 coordinately augment or repress cytokine productions of stimulated spleen cells, which may also involve the PPAR- γ -mediated mechanisms.

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

1-P1-PM27 HUCPVC の分化に及ぼす塩基性線維芽細胞増殖因子の影響

○矢部 正浩¹, 唐木田丈夫², 山本 竜司², 野々山 駿¹, 山越 康雄², 長野 孝俊¹,
五味 一博¹

¹鶴大 歯 歯周病, ²鶴大 歯 生化

医療廃棄物として処理される臍帯は間葉系細胞の豊富な供給源であり、非侵襲的に得ることが可能である。特にヒト臍帯血管内細胞(HUCPVC)は骨髄間葉系幹細胞の代替細胞として再生医療への応用が期待されている。一方、塩基性線維芽細胞増殖因子(b-FGF)は歯周組織再生手術に適用されており、歯周組織再生が誘導されることが明らかになっている。【目的】本研究ではHUCPVCにb-FGFを添加することにより硬組織形成細胞への分化を誘導するかの検証を行った。【材料と方法】本研究ではHUCPVCにb-FGF添加後、経時的にHUCPVCの細胞増殖能、アルカリホスファターゼ(ALP)活性の測定およびリアルタイムPCR(RT-PCR)により硬組織関連遺伝子発現の測定を行った。また、b-FGF、活性型ビタミンD、LDNを併用することにより、硬組織形成細胞への分化能の影響についての比較検討も行った。【結果と考察】HUCPVCにb-FGF、活性型ビタミンD、LDNあるいは活性型ビタミンD、LDNを添加することでALP活性の上昇とRUNX2、オステオポンチンの発現上昇が見られた。特にb-FGF、活性型ビタミンD、LDNにおいて最も反応が強かった。また、細胞増殖能測定ではHUCPVCにb-FGFを添加することによってコントロールに比べ増殖速度が高かった。一方、b-FGF、活性型ビタミンD、LDNを添加することでALP活性は上昇するものの増殖速度は低下した。【結論】これらの実験からHUCPVC細胞に対するb-FGFの作用は、活性型ビタミンD、LDNの存在下でHUCPVCを硬組織形成細胞へと分化させALP活性の上昇をもたらすと考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effect of basic fibroblast growth factor on the differentiation of HUCPVC

○Yabe M¹, Karakida T², Yamamoto R², Nonoyama S¹, Yamakoshi Y², Nagano T¹, Gomi K¹

¹Dept Periodont Tsurumi Univ Sch Dent Med, ²Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Human umbilical cord perivascular cells (HUCPVC) are expected to be applied to regenerative medicine as alternative cells for bone marrow mesenchymal stem cells. On the other hand, basic fibroblast growth factor (b-FGF) has been applied to periodontal tissue regeneration surgery, and it has been clarified that the periodontal tissue regeneration is induced. Our Objective: is to investigate whether the addition of b-FGF to HUCPVC induces the differentiation into hard tissue-forming cells. Methods: HUCPVC was cultured in the presence or absence of b-FGF, active vitamin D and LDN193189, and cell proliferation ability, alkaline phosphatase (ALP) activity and the mRNA level of hard tissue-related genes were measured. Results and Discussions: The presence of b-FGF, active vitamin D and LDN193189 enhanced ALP activity in HUCPVC and mRNA level of Runx2 and osteopontin. The presence of only b-FGF increased the cell proliferation rate of HUCPVC, but the combination of b-FGF, active vitamin D and LDN193189 suppressed the cell proliferation ability of HUCPVC. Our results suggest that the combination of b-FGF, active vitamin D and LDN193189 slowly differentiates HUCPVC into hard tissue-forming cells.

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

1-P1-PM28 骨タンパク質に含まれる骨再生促進因子の同定と効果の検証

○齊藤 悠^{1,2}, 山本 竜司², 白井 麻衣¹, 大熊理沙子², 山越 康雄²

¹鶴大 歯 補綴 I, ²鶴大 歯 生化

抜歯後の周囲骨吸収に対し、メンブレンによるスペースメイキングの有用性は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。過去の研究でメンブレンに脱灰骨シートを用いたところ、骨再生の促進効果が得られ、その効果はシートに含まれる骨タンパク質に起因すると考えられた。【目的】本研究は脱灰骨中に含まれる骨タンパク質の骨再生促進因子の同定と効果の検証を目的とした。【材料および方法】6週齢雄性SDラット脛骨より、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）と骨タンパク質を段階的に抽出した。抽出した骨タンパク質は電気泳動、ウェスタンブロッティング（WB）および質量分析を行った。また、大腿骨を塩酸グアニジン処理後、塩酸で脱灰し、1辺3mmに成形し脱灰骨シートDBS-Pとした。DBS-P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をDBS-E、DBS-Eに脛骨由来G2画分を再吸着させたシートをDBS-R、比較対象として同様の操作をG2画分なしで行ったシートをDBS-Cとした。作製した4種の脱灰骨シートをラット四肢の腋皮下に各々移植し（n=3）、8週後に屠殺、micro-CT撮影および非脱灰切片を作成し観察をした。【結果】抽出した骨タンパク質は電気泳動から各画分に特有のタンパク質の存在が確認された。また、WBにて分子量50-64kDaの領域にオステオポンチン（OPN）抗体に陽性を示すバンドが検出された。移植実験ではmicro-CT画像より、DBS-Pは高度に、DBS-Rでは軽度に石灰化している部位を認めた。【考察】G2画分中にはOPNを含む骨タンパク質が存在し、これらが骨増生を促進していることが示唆された。生体移植実験でもG2画分を含む脱灰骨シート（DBS-P、DBS-R）で石灰化が観察されており、G2画分に骨増生関連因子を含むことが示されている。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Identification and verification of effectiveness of regeneration factors in bone proteins

○Saito H^{1,2}, Yamamoto R², Shirai M¹, Chiba-Ohkuma R², Yamakoshi Y²

¹Dept Removable Prosthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ²Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Objectives: The purpose of this study is to identify of regeneration factors in bone proteins. **Methods:** Bone proteins were sequentially extracted with guanidine hydrochloride (G1), hydrochloric acid (H) and guanidine hydrochloride (G2) from the tibiae of 6-week-old SD rats and performed biochemical analysis. Femora of SD rats were demineralized and a bone sheet (DBS-P) was prepared (3.0 × 3.0 mm). Sheets of other conditions were made which extracted bone proteins from DBS-P (DBS-E), re-adsorbed bone proteins on DBS-E (DBS-R), and for control (DBS-C). These sheets were transplanted subcutaneously in rats (n=3). At 8 weeks post-transplantation, all rats were sacrificed and each sheets was observed with a micro-computed tomography (micro-CT) and optical microscope. **Results:** The presence of specific protein was analyzed by SDS-PAGE and the osteopontin within the molecular weight range of 50-64 kDa was detected by Western blotting. Micro-CT images showed highly calcified areas in DBS-P and weakly calcified areas in DBS-R. **Discussion:** It was suggested that the specific protein contained in G2 fraction had some effect on bone augmentation. Transplantation experiments have also observed calcification in demineralized bone sheets containing the G2 fraction (DBS-P and DBS-R), indicating that the G2 fraction contains factors for bone growth.

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

1-P1-PM29 糖尿病原因遺伝子 GPRC5B はグルコース飢餓によって誘導される頭頸部扁平上皮癌細胞のアポトーシスを抑制する

○金森 慶亮, 小澤 重幸, 生駒 丈晴, 鈴木 健司, 田中 香衣, 沢井奈津子,
安部 貴大

神歯大 院歯 顎顔面機能再建

【目的】近年, 正常細胞で GPRC5B が, 細胞外グルコース (Glc) の感知や代謝, さらにはインスリン抵抗性に関与する分子であることが証明され, 糖尿病原因遺伝子として飛躍的に研究が進んでいるが, 悪性腫瘍での役割については未だ報告がない. 本研究は, 悪性腫瘍における GPRC5B の機能解析を行うことを目的とした新たな試みである. 【材料および方法】公開データベース Protein Atlas を用いて, 頭頸部, 乳房, 胃, 膵臓, 大腸の各がん患者を対象にがん組織中の GPRC5B の発現レベルと予後を調査した. 頭頸部扁平上皮癌細胞株 6 種を入手し, GPRC5B の発現と培地中の Glc 濃度依存的な生存活性を比較検討した. さらに, 最も発現の少なかった細胞株に GPRC5B を強制発現させコントロール細胞との比較検討を行った. 細胞増殖は増殖活性測定用試薬および細胞数測定により検討した. アポトーシスおよびネクローシスを生じた細胞は専用の染色キットを用いて蛍光染色し, 定量解析した. 【結果】データベース解析では, 頭頸部をはじめ対象とした各がん患者はいずれも, がん組織中の GPRC5B が高発現している群で 5 年生存率が低かった. 細胞株 6 種は, GPRC5B の発現が高い細胞株ほど, 培地中の Glc 濃度低下による飢餓ストレス下においても生存活性が高い傾向を示した. 更に Glc 不含培地培養下における GPRC5B 強制発現細胞株はコントロール細胞と比較してアポトーシスが有意に抑制されていた. 【結論】GPRC5B の発現レベルは, 頭頸部扁平上皮癌をはじめとした悪性腫瘍担癌患者の予後を左右するものであり, そのメカニズムとして, グルコース飢餓によって誘導されるアポトーシスの回避に GPRC5B の関与が考えられた. 本発表内容は, 頭頸部扁平上皮癌細胞を使用し, 悪性腫瘍における GPRC5B の役割を初めて解明した研究である.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

The diabetic causative gene GPRC5B suppresses stress-induced apoptosis upon glucose starvation in head and neck squamous cell carcinoma

○Kanamori K, Ozawa S, Ikoma T, Suzuki K, Tanaka K, Sawai N, Abe T

Dept Dentmaxillofac Diag Tre, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

The molecule GPRC5B has recently been shown to be involved in sensing and metabolizing extracellular glucose (Glc) in normal cells. Although research on its role as a gene responsible for diabetes mellitus has progressed rapidly, there have been no reports on its role in malignant tumors. In the present study, we aimed to analyze the function of GPRC5B in malignant tumors. The database analysis revealed that the 5-year survival rate was low in patients exhibiting high GPRC5B expression in cancer tissue, including head and neck cancer. Of the six head and neck squamous cell carcinoma cell lines studied, those with higher GPRC5B expression exhibited greater survival under starvation stress due to reduced Glc concentration in the medium. Furthermore, compared to control, apoptosis was significantly suppressed in the GPRC5B-expressing cells when cultured in Glc-free medium. Our results suggested that GPRC5B may be a promising prognostic factor for cancer. In the head and neck squamous cell carcinoma lines, GPRC5B was found to suppress Glc starvation induced apoptosis. This suggests that cancer cells acquire new pathways for Glc metabolism, and Glc-GPRC5B signaling axis may contribute to better understanding the mechanisms underlying malignancy.

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

1-P1-PM30 陰イオン交換により作製した異なるホウ素濃度の S-PRG フィラー抽出液のヒト歯髄由来幹細胞への影響

○巽 勇介¹, 川木 晴美^{2,3}, 上野 恭平³, 新谷 耕平⁴, 梅村 直己³, 神谷 真子^{3,5}, 高山 英次³, 堀田 正人⁶, 二階堂 徹¹, 近藤 信夫³

¹朝日大 歯 保存, ²朝日大 歯 化学, ³朝日大 歯 口腔生化, ⁴朝日大 歯 理工, ⁵朝日大 営 化学, ⁶朝日大

S-PRG フィラーはホウ素をはじめとする成分を溶出する生体活性ガラスフィラーとして知られている。我々はこれまでに、ホウ素の溶出量が高い S-PRG フィラー抽出液を添加した培地が、ヒト歯髄由来幹細胞 (hDPSCs) のアルカリホスファターゼ (ALP) 活性を高める可能性があることを報告した。しかし、この結果がホウ素による作用なのか、抽出液中の複数の成分に起因するのかわかっていない。そこで本研究では、多成分系である S-PRG フィラー抽出液の作用におけるホウ素の役割を明らかにするために、陰イオン交換材を用いてホウ素を除去した改変型 S-PRG フィラー抽出液を作製し、hDPSC の動態を評価した。S-PRG フィラー抽出液は株式会社松風より提供を受け、ホウ素特異的陰イオン交換材であるアンバーライト IRA743 を用いてホウ素を除去した。抽出液中の元素濃度は ICP 発光分析およびフッ素イオン電極法で測定した。また、イオン交換前後のアンバーライト顆粒の元素マッピング分析を実施した。さらに、ホウ素を除去した改変型 S-PRG フィラー抽出液を培地に添加し、hDPSC の増殖および ALP 活性を評価した。S-PRG フィラー抽出液中のほとんどすべてのホウ素は、アンバーライト顆粒を介したイオン交換によって除去でき、顆粒に顕著なホウ素吸着が観察された。これによって、アンバーライトが他の成分の存在下でもホウ素を選択的に除去できることが示された。この改変型 S-PRG フィラー抽出液と、未改変の抽出液を用いて hDPSC の動態を評価したところ、細胞増殖はホウ素含有量に関係なく、S-PRG フィラー抽出液の添加による影響を受けなかった。一方、ALP 活性は、未改変のホウ素含有 S-PRG フィラー抽出液を含む培地で培養すると上昇したが、ホウ素を除去した改変型 S-PRG フィラー抽出液を含む培地で培養した hDPSC の場合、ALP 活性の上昇は観察されず、S-PRG フィラー抽出液中のホウ素が hDPSC の ALP 活性の上昇に寄与していることが示された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effect of S-PRG filler eluate with different boron concentrations prepared by anion exchange on human dental pulp-derived stem cells

○Tatsumi Y¹, Kawaki H^{2,3}, Ueno K³, Shintani K⁴, Umemura N³, Kamiya M^{3,5}, Takayama E³, Hotta M⁶, Nikaido T¹, Kondoh N³

¹Dept Oper Dent, Asahi Univ Sch Dent, ²Dept Chem, Asahi Univ Sch Dent, ³Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, ⁴Dept Dent Mater Sci, Asahi Univ Sch Dent, ⁵Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin, ⁶Asahi Univ

Surface pre-reacted glass-ionomer (S-PRG) fillers are bioactive glass fillers that elute boron and other components. Previously, we reported that a medium supplemented with S-PRG filler eluate, which has a significantly high boron leaching rate, can increase the alkaline phosphatase (ALP) activity of human dental-pulp-derived stem cells (hDPSCs). However, whether this result can be attributed to the effect of boron or the other multiple components of S-PRG filler eluate remains unclear. Therefore, to clarify the role of boron in the influence of multicomponent S-PRG filler eluates, we prepared a modified S-PRG filler eluate with different boron concentrations by using an anion exchange material and evaluated the corresponding hDPSC activities. The growth of hDPSCs was not affected by the addition of the S-PRG filler eluate regardless of its boron content. The ALP activity of hDPSCs increased when cultured in a medium with the boron-containing S-PRG filler eluate, although no increase in the ALP activity was observed in the case of hDPSCs cultured in a medium with the modified S-PRG filler eluate from which boron was removed. In other words, the boron in the S-PRG filler eluate contributed to the increase in the ALP activity of hDPSCs.

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

1-P1-PM31 閉経による血清 RANKL 濃度の上昇は NF- κ B の非古典的経路を活性化し肥満を引き起こす

○森 馨代¹, 溝上 顕子², 佐野 朋美³, 兼松 隆³, 自見英治郎^{1,2}

¹九大 院歯 口腔細胞工学, ²九大 院歯 OBT 研究セ, ³九大 院歯 口腔機能分子

肥満で増大した脂肪組織は、炎症性サイトカインを分泌し、脂肪組織や肝臓などに慢性炎症を引き起こす。この肥満による慢性炎症反応は、生活習慣病の病態の基盤となる。閉経後の女性は、内臓脂肪型肥満をきたしやすく生活習慣病リスクが増大するが、その発症機序には未だ解明の余地がある。さて、炎症反応で中心的な役割を担う転写因子の NF- κ B は、receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)によっても活性化される。我々は、閉経後に RANKL の血中濃度が上昇することに着目し、RANKL-NF- κ B 経路の活性化が閉経後の脂肪蓄積の一因ではないかとの仮説を立て、本研究を行った。野生型マウスの骨髄細胞を RANKL で刺激すると、TNF α の mRNA 発現は 2 相性に上昇した。この Tnf α の発現変化は、第 1 相が古典的経路に第 2 相が非古典的経路に依存することを NF- κ B 古典的経路阻害剤を用いて確認し、経路依存的に炎症反応が制御される可能性を示した。本研究では NF- κ B の非古典的経路に焦点をあて、閉経後肥満の発症機構を解析するために、非古典的経路の活性化が障害されている aly/aly マウスを用いて実験を行なった。野生型および aly/aly マウスの卵巣を摘出 (OVX) した閉経モデルマウスを高脂肪・高シヨ糖食の自由摂餌下で飼育した。野生型マウスでは、OVX 後 10 週の間脂肪細胞の肥大、脂肪組織の炎症、肝臓への異所性脂肪蓄積が起こり、インスリン抵抗性、耐糖能異常を示した。一方、OVX 施行で野生型同様に aly/aly マウスの血清 RANKL 濃度は上昇したにも関わらず、野生型で認めた脂肪蓄積・炎症は抑制され、全身の糖代謝の異常も抑制された。これらの結果は、RANKL-NF- κ B の非古典的経路の活性化が、閉経後の肥満を引き起こす要因となることを示している。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Non-canonical NF- κ B pathway is involved in postmenopausal obesity

○Mori K¹, Mizokami A², Sano T³, Kanematsu T³, Jimi E^{1,2}

¹Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²OBT Res Cent Fac Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³Sect Aging Sci Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Postmenopausal women are susceptible to visceral obesity, which increases the risk of metabolic disorders. However, the mechanisms of menopause-induced visceral fat accumulation are not fully understood. It is known that circulating levels of receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) is increased in postmenopausal women. RANKL is a multifunctional cytokine, which activates NF- κ B pathway, a transcription factor that serves as a pivotal mediator of inflammatory responses. In this study, we investigated the potential role of RANKL-induced non-canonical NF- κ B activation in inducing systemic chronic inflammation and postmenopausal lipid accumulation. We confirmed that RANKL induced Tnf α expression via non-canonical NF- κ B pathway in bone marrow cells. We therefore analyzed aly/aly mice carrying a loss-of-function mutation in essential noncanonical kinase, NF- κ B-inducing kinase (NIK). Model of postmenopausal obesity was generated by ovariectomy and subsequent high-fat and high-sucrose diet feeding. aly/aly mice with postmenopausal obesity exhibited elevated serum RANKL levels and suppressed hepatic lipid accumulation and adipocyte hypertrophy, which resulted in decreased macrophage infiltration and mRNA expression of inflammatory cytokines in visceral adipose tissue, leading to protection from glucose intolerance induced by ovariectomy-induced obesity. Our results suggest that the activation of the non-canonical NF- κ B pathway by increased serum RANKL is a contributing factor for postmenopausal obesity.

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

1-P1-PM32 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 感染関連因子 S タンパク-ACE2 結合に対する歯磨剤及び洗口剤成分の阻害作用

○柚鳥 眞里¹, 堤 康太¹, 辻 一徳², 栗田 啓¹, 西永 英司¹, 槻木 恵³

¹ライオン オーラルケア研, ²分子機能研究所, ³神歯大 院歯 口腔科学

【目的】新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) は、ウイルスの S タンパクが宿主のアンギオテンシン変換酵素 2 (ACE2) に結合した後、宿主の 2 型膜貫通型セリンプロテアーゼ (TMPRSS2) の活性化を介して細胞内へ侵入する。口腔粘膜 (歯肉・舌) には ACE2 及び TMPRSS2 が発現しており^{1),2)}、感染経路の 1 つとして考えられる。そこで市販の歯磨剤及び洗口剤の SARS-CoV-2 感染経路阻害ポテンシャルを明らかにするため、本研究では歯磨剤及び洗口剤に一般的に含まれる各成分の S タンパク-ACE2 結合阻害作用について評価を実施した。

【方法】歯磨剤及び洗口剤に含まれる成分 30 種をリン酸緩衝液に溶解 (終濃度 1%) し、ELISA 法にて S タンパク-ACE2 結合阻害作用を評価した。また見出した成分の阻害メカニズムの検証を目的に、各成分と ACE2 の阻害剤結合サイトに対する結合状態を分子ドッキングシミュレーションで評価した。

【結果・考察】歯磨剤に汎用的に用いられているテトラデセンスルホン酸 Na, ラウロイルメチルタウリン Na, ラウリル硫酸 Na 等の 5 成分に S タンパク-ACE2 結合阻害作用があることを見出した。分子ドッキングシミュレーションの結果、メカニズムの 1 つとしてこれら成分が ACE2 の阻害剤結合サイトに結合することで阻害作用を発揮している可能性が示唆された。

【結論】本結果より、歯磨剤及び洗口剤に含まれる成分が、新型コロナウイルス感染予防に寄与する S タンパク-ACE2 結合阻害作用を有する可能性が示唆された。

1) Sakaguchi W *et al.*, *Int J Mol Sci.* **2020**, 21, 6000.

2) Huang N *et al.*, *Nat Med.* **2021**, 27(5), 892-903.

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Inhibitory effects of toothpaste and mouthwash ingredients on the interaction between S-protein of SARS-CoV-2 and ACE2

○Yutori M¹, Tsutsumi K¹, Tsuji M², Kurita K¹, Nishinaga E¹, Tsukinoki K³

¹Oral Care Res Lab, Lion Corp, ²Inst Mol Funct, ³Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) host cell entry is mediated by the binding of the viral spike protein (S-protein) to the host angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and its cleavage by transmembrane protease serine 2 (TMPRSS2). Since ACE2 and TMPRSS2 are expressed in the tongue and gingival mucosa, the oral cavity is a potential entry point for SARS-CoV-2. This study aimed to investigate the potential of commercial toothpastes and mouthwashes to inhibit SARS-CoV-2 cell entry. We evaluated the effects of 30 general ingredients of toothpastes and mouthwashes on the interaction between the S-protein and ACE2 using enzyme-linked immunosorbent assay. To further understand the mechanism involved, the binding state of each ingredient to the inhibitor-binding site of ACE2 was evaluated by molecular docking simulation. Five ingredients, including sodium tetradecene sulfonate, sodium methyl lauroyl taurate, and sodium dodecyl sulfate, inhibited the interaction between S-protein and ACE2. Molecular docking simulations suggested that these ingredients could bind to the inhibitor-binding site of ACE2. Our findings suggest that the identified toothpaste and mouthwash ingredients might contribute to the prevention of SARS-CoV-2 infection.

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

1-P1-PM33 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 感染関連因子 TMPRSS2 活性に対する歯磨剤及び洗口剤成分の阻害作用

○牧野 莉帆¹, 岩本 拓¹, 辻 一徳², 森下 聡¹, 山本 幸夫¹, 槻木 恵一³

¹ライオン 口腔健康科学研, ²分子機能研究所, ³神歯大 院歯 口腔科学

【目的】 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) は、ウイルスの S タンパクが宿主のアンギオテンシン変換酵素 2 (ACE2) に結合した後、宿主の 2 型膜貫通型セリンプロテアーゼ (TMPRSS2) の活性化を介して細胞内へ侵入する。口腔粘膜 (歯肉・舌) には ACE2 及び TMPRSS2 が発現しており、感染経路の一つとして考えられる^{1,2)}。そこで市販の歯磨剤及び洗口剤の SARS-CoV-2 感染経路阻害ポテンシャルを明らかにするため、本研究では歯磨剤及び洗口剤に一般的に含まれる成分の TMPRSS2 酵素活性阻害作用について評価を実施した。

【方法】 歯磨剤及び洗口剤に含まれる成分 30 種をリン酸緩衝液に溶解 (終濃度 1%) し、TMPRSS2 酵素活性阻害作用を *in vitro* 系で評価した。また、見出した成分の阻害メカニズムの検証を目的に、各成分の TMPRSS2 の阻害剤結合サイトに対する結合状態を分子ドッキングシミュレーションで評価した。

【結果・考察】 歯磨剤に汎用的に用いられているテトラデセンスルホン酸 Na, ラウロイルメチルタウリン Na, ラウリル硫酸 Na 等の 7 成分に TMPRSS2 酵素活性阻害作用があることを見出した。分子ドッキングシミュレーションを行った結果、これら成分の中に TMPRSS2 の阻害剤結合サイトに結合する可能性があるものを見出したため、合わせて報告する。

【結論】 本結果より、歯磨剤及び洗口剤に含まれる成分が、新型コロナウイルス感染予防に寄与する TMPRSS2 酵素活性阻害作用を有する可能性が示唆された。

1) Sakaguchi W et al., *Int J Mol Sci.* **2020**, 21, 6000.

2) Huang N et al., *Nat Med.* **2021**, 27(5), 892-903.

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Inhibitory effects of toothpaste and mouthwash ingredients on SARS-CoV-2 priming protease TMPRSS2

○Makino R¹, Iwamoto T¹, Tsuji M², Morishita S¹, Yamamoto Y¹, Tsukinoki K³

¹Adv Oral Health Sci Res Lab, Lion Corp, ²Inst Mol Funct, ³Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) host cell entry is mediated by the binding of the viral spike protein to the host angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and its cleavage by transmembrane protease serine 2 (TMPRSS2). Since ACE2 and TMPRSS2 are expressed in the tongue and gingival mucosa, the oral cavity is a potential entry point for SARS-CoV-2. This study aimed to investigate the potential of commercial toothpastes and mouthwashes to inhibit SARS-CoV-2 cell entry. We evaluated the effects of 30 general ingredients of toothpastes and mouthwashes on TMPRSS2 protease activity using an *in vitro* assay. To understand the mechanisms involved, the binding state of each ingredient to the inhibitor-binding site of TMPRSS2 was evaluated by molecular docking simulation. Seven ingredients, including sodium tetradecene sulfonate, sodium methyl lauroyl taurate, and sodium dodecyl sulfate, inhibited the protease activity of TMPRSS2. Molecular docking simulations suggested that some of these ingredients could bind to the inhibitor-binding site of TMPRSS2. Our findings suggest that the identified toothpaste and mouthwash ingredients might contribute to the prevention of SARS-CoV-2 infection.

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

1-P1-PM34 エナメル上皮腫における RAF1-MAPK 依存性の低分子量 G タンパク質 ARL4C の高発現は腫瘍細胞増殖と破骨細胞形成を促進する

○小倉 萌¹, 藤井 慎介¹, 自見英治郎^{2,3}, 清島 保¹

¹九大 院歯 口腔病理, ²九大 院歯 OBT 研究セ, ³九大 院歯 口腔細胞工学

歯原性腫瘍であるエナメル上皮腫は良性腫瘍に分類されるが、広範な顎骨吸収を呈して、臨床的にも重要な腫瘍と考えられる。最近、エナメル上皮腫における BRAF 遺伝子の機能獲得型変異 (BRAF V600E) を介した MAPK の異常活性化について報告された。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 EGF-MAPK シグナルの活性化により発現が誘導され、ヒト各種癌腫の細胞増殖を介した腫瘍形成を促進することが報告されている。一方、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、ARL4C の発現は BRAF V600E 変異および RAF1 と共局在することを見出した。さらに、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実験を行ったところ、その発現は BRAF V600E 変異に依存しておらず、RAF1 に依存していた。また、AM-1 において 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。加えて、マウス骨髄細胞と骨芽細胞に AM-1 を共存培養したところ、AM-1 における ARL4C の発現が破骨細胞の形成に必要であった。これらの結果から、エナメル上皮腫において、ARL4C は RAF1-MEK/ERK シグナル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 (細胞増殖) および破骨細胞形成に必要であることが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

RAF1-MEK/ERK-mediated ARL4C expression promotes ameloblastoma cell proliferation and osteoclast formation

○Kokura M¹, Fujii S¹, Jimi E^{2,3}, Kiyoshima T¹

¹Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²OBT Res Cent Fac Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Ameloblastoma is an odontogenic neoplasm characterized by intraosseous slow growth with progressive bone resorption in the jaw. Recent reports have revealed that ameloblastoma harbors an oncogenic BRAF V600E mutation with MAPK pathway activation. We currently examine the expression and function of ADP-ribosylation factor (ARF)-like 4c (ARL4C), a member of small GTP-binding superfamily, in the oral fields especially in tumorigenesis and morphogenesis. ARL4C expression is reportedly induced by EGF/Ras signaling, and ARL4C overexpression, due to its signaling alterations, is involved in tumorigenesis. However, ARL4C 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 strongly expressed in tumor lesions at high frequencies alongside the expression of both BRAF V600E and RAF1. The experiments using siRNA and inhibitors revealed that ARL4C expression depended on RAF1-MAPK, but not BRAF V600E mutation in ameloblastoma cell line. ARL4C-depleted AM-1 cells using CRISPR/Cas9 system exhibited decreased cellular growth and suppressed osteoclast formation when AM-1 was co-cultured with mouse bone marrow cells and primary osteoblasts. These results suggest that RAF1-MEK/ERK-mediated ARL4C expression promotes ameloblastoma cell proliferation and osteoclast formation.

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

1-P1-PM35 口腔扁平上皮癌における上皮-間葉転換制御と上皮内進展・間質浸潤

○阿部 達也¹, 山崎 学¹, 丸山 智², 田沼 順一¹

¹新潟大 院医歯 口腔病理, ²新潟大 医歯病 病理検査(歯科)

【背景】口腔扁平上皮癌の病理組織標本において、癌組織は非癌組織との間に境界面を形成することが認識されている。この境界面は病理診断における重要な組織学的所見の一つであるが、癌-非癌境界における癌細胞動態は不明な点が多い。これまでに口腔扁平上皮癌 (OSCC) の病理組織標本を用いた蛋白質網羅的解析により、ladinin-1 (LAD1) が非癌組織に近接する癌組織で高発現することを報告した (Abe et al. 2017)。そこで、癌の進展における LAD1 の機能を検討することとした。【方法】OSCC 培養細胞株 (HSC-2, 3, 4) を用いた siRNA 発現抑制実験により、LAD1 の細胞内機能解析を行った。【結果と考察】LAD1 抑制細胞は wound healing assay では細胞遊走能の低下・time-lapse 動画解析では細胞移動速度の低下を示した。一方、transwell migration assay では遊走促進・コラーゲンゲル上培養法ではゲル内への癌細胞の浸潤能の増加という相反する結果を示した。また、免疫蛍光法では、LAD1 は細胞内の actin arc に局在しており、LAD1 発現抑制下では lamella 伸展が低下し、細胞面積減少や不規則な細胞突起の伸長が特徴的であった。さらに、LAD1 抑制細胞には上皮間葉転換 (EMT) 関連遺伝子発現変動を示し、vimentin 陽性細胞率の増加、E-cadherin 膜陽性像の減少を示したことから、EMT 現象における間葉性表現型の発現が示唆された。【結論】LAD1 は癌細胞の平面遊走を正に、垂直遊走を負に制御しているとともに、EMT と関連した上皮性表現型の維持に関連し、癌の上皮内進展と間質浸潤の調整に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Regulation of epithelial-mesenchymal transition in oral squamous cell carcinoma: intraepithelial progression and stromal invasion

○Abe T¹, Yamazaki M¹, Maruyama S², Tanuma J¹

¹Div Oral Pathol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Oral Pathol Sect Dept Surg Pathol, Niigata Univ Med Dent Hosp

Oral squamous cell carcinomas (OSCCs) often form the interfaces against non-cancerous epithelium. We identified several proteins, including ladinin-1 (LAD1), were increased in the cancer tissues at the interface by tissue proteomics. This study aimed to examine LAD1 functions in OSCCs in-vitro. LAD1-knockdown cells showed enhancement of three-dimensional migration in the transwell migration assay and collagen gel invasion assay, in contrast, inhibition of planar migration in the wound scratch assay and time-lapse cell tracking. LAD1 was localized in the peripheral area of the cytoplasm and co-localized with actin filaments forming an actin arc. LAD1-knockdown cells demonstrated irregular cell shape with inhibited cellular expansion compared with the controls. In addition, knockdown of LAD1 led to altered expression of epithelial-mesenchymal transition (EMT)-related genes and decreasing of vimentin-positive cell ratio and membranous E-cadherin positivity. These results suggested that LAD1 is associated with reciprocal regulation between planar cell migration and three-dimensional migration and maintaining of epithelial cell characteristics in EMT phenomenon of OSCC cells.

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

1-P1-PM36 洗口液中殺菌成分セチルピリジニウム塩化物水和物の SARS-CoV-2 に対する効果

○武田 遼^{1,2}, 間石 奈湖¹, 樋田 京子¹

¹北大 院歯 口腔病態, ²北大 院歯 口腔診断内科

【背景】 COVID-19 は SARS-CoV-2 を原因とする感染症である。現在、複数の変異株が報告されており、感染状況への影響が懸念されている。SARS-CoV-2 は human ACE2 を発現する口腔上皮に感染し、唾液中に排出されると考えられている。セチルピリジニウム塩化物水和物 (以下, CPC) は殺菌成分として洗口液などの商品に含まれ広く普及している。しかし、唾液中の SARS-CoV-2 に対する CPC の作用について詳細に検討した報告は少ない。【目的】我々は、CPC 製剤の SARS-CoV-2 に対する感染・重症化の予防効果の基礎的知見を得ることを目的として、CPC 製剤の唾液中の SARS-CoV-2 を抑制する効果について詳細に検討を加えた。【方法】1) SARS-CoV-2 に対する CPC の感染抑制作用を Plaque assay 法にて定量評価し、また、qRT-PCR 法にて SARS-CoV-2 ゲノム RNA 量を定量評価した。2) 健常者唾液に SARS-CoV-2 を添加したサンプルに CPC を添加し、Plaque assay 法にて SARS-CoV-2 に対する抑制効果を定量評価した。3) マウスに SARS-CoV-2 マウス馴化株を経鼻接種し、肺炎重症化の有無を病理学的に確認し、CPC による重症化予防を評価する系を構築した。【結果】1) CPC は唾液の非存在下、および存在下で濃度依存的に、SARS-CoV-2 の感染性を抑制し、SARS-CoV-2 ゲノム RNA 量を減少させた。2) 感染マウスの肺組織において広範囲に静脈内血栓が認められ、ヒト COVID-19 重症例に類似した所見が得られた。ウイルスの気道侵入の抑制が COVID-19 発症や重症化予防に重要と思われ、今後様々な CPC 製剤の効果を検証する方針である。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

The virucidal effects of cetylpyridinium chloride as antiseptic substances in mouthwash against SARS-CoV-2

○Takeda R^{1,2}, Maishi N¹, Hida K¹

¹Dept Vas Biol & Mol Pathol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ²Dept Oral Diagn Med, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

[Purpose] To investigate the possibility of infection control with using CPC, to check virucidal effects of CPC against SARS-CoV-2. [Materials & Methods] 1) Virucidal effects of CPC against SARS-CoV-2 were analyzed quantitatively by Plaque assay. In addition, the amounts of SARS-CoV-2 genome RNA were analyzed by qRT-PCR. 2) SARS-CoV-2 was added into saliva of healthy volunteer and virucidal effects of CPC against SARS-CoV-2 in saliva were analyzed quantitatively by Plaque assay. 3) Mice were inoculated with mouse adapted SARS-CoV-2. The lungs dissected from mice were analyzed pathologically. COVID-19 mice model to analyze the effects of CPC to prevent the aggravation of COVID-19. [Results & Conclusion] 1) CPC suppressed virus titer and genome RNA of SARS-CoV-2. CPC has the virucidal effects against SARS-CoV-2 even in saliva. 2) In the lung tissues of mice infected with SARS-CoV-2, blood clot and SARS-CoV-2 nucleocapsid protein were observed as same as findings of human aggravation cases. Aggravation was started from the point of intratracheal invasion. Reducing viral infectivity in oral cavity and nasal cavity is important for prevention of COVID-19 onset and aggravation.

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

1-P1-PM37 軸索誘導因子 Sema3A による唾液腺形態形成および腺様嚢胞癌の増殖制御メカニズムの解明

○藤本 龍史¹, 藤井 慎介², 清島 保²

¹九大 病院 臨床教育研修セ, ²九大 院歯 口腔病理

最近, 発表者らの研究室では, Wnt シグナルによって発現制御された軸索ガイダンス因子 Semaphorin3A (Sema3A) と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). 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と唾液腺を発生母地とする腺様嚢胞癌 (ACC) 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, 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, 細胞数, 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 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 シグナルが活性化し, Sema3A の発現が抑制された. また ACC 細胞株においても, 阻害剤濃度依存的に Sema3A の発現が抑制された. 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. また ACC 細胞株においても同様に, AKT のリン酸化および増殖が抑制された. 加えて, Sema3A を外因的に発現させると, 増殖の抑制と AKT のリン酸化の抑制が回復した. 本研究の結果より, 唾液腺の発生過程において Wnt 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および腺様嚢胞癌の増殖に必要であることが明らかとなった.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Elucidation of salivary gland morphogenesis and adenoid cystic carcinoma growth control mechanism by Semaphorin3A, an axonal guidance factor

○Fujimoto T¹, Fujii S², Kiyoshima T²

¹Kyushu Univ Hosp Clin Educ Training Cent, ²Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Recently, we demonstrated that Wnt 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. In this study, we aimed to elucidate the role of Sema3A signaling in salivary gland development and adenoid cystic carcinoma (ACC). We isolated submandibular salivary glands (SMG) from embryonic day 13 and cultured them, and found that morphogenesis was accelerated day by day. The effect of Wnt signaling on the expression of Sema3A was examined. Wnt signaling was activated by CHIR99021, and the expression of Sema3A was suppressed in a dose-dependent manner. Similarly, the expression of Sema3A was also suppressed in ACC cells by CHIR99021 treatment. A Sema3A inhibitor decreased salivary gland area and buds in SMG. In addition, proliferation capabilities and phosphorylation of AKT in SMG and ACC were suppressed by Sema3A inhibitor. Our results indicate that Wnt signaling regulates Sema3A expression during SMG development, and that the Sema3A-AKT-axis is required for salivary gland morphogenesis and ACC cellular growth.

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

1-P1-PM38 内分泌攪乱物質 AhR リガンドは Cyp1a1 シグナルを介して破骨細胞分化および骨代謝を制御する

○吉川 友理, 井澤 俊, 上岡 寛

岡大 院医歯薬 矯正

【目的】 ダイオキシン受容体として知られる転写因子 aryl hydrocarbon receptor (AhR)は、様々な組織に発現がみられ、最近になって一部の免疫細胞にも高発現していることが明らかになってきている。これまで AhR が RANKL シグナルを介した破骨細胞形成においても重要であることが報告されているものの、破骨細胞における各種 AhR リガンドによる破骨細胞分化や骨代謝への詳細な影響については未だ不明な点が多い。【方法および結果】 タバコ煙中に含まれる AhR アゴニスト benzo[a]pyrene (B[a]P)を野生型マウスへ経口投与した結果、下顎頭下骨部において破骨細胞の活性上昇による骨量の減少、AhR 標的遺伝子の一つである cytochrome P4501A1 (Cyp1a1)の発現上昇がみられた。一方で AhR 欠損マウスへの投与では骨量や破骨細胞活性に変化を認めなかった。次に内因性 AhR リガンドの一つ 6-formylindolo[3, 2-b]carbazole (FICZ)をマウス変形性顎関節症モデルマウスに投与した結果、下顎頭表面のびらんや過剰な破骨細胞集積の軽減傾向がみられた。変形性顎関節症モデルマウス下顎頭では Cyp1a1 の発現上昇を認めたものの FICZ 投与により有意に発現が低下した。さらに in vitro において FICZ 添加により破骨細胞形成能の減少を認めた。【結論】 以上のことから、AhR リガンド刺激による Cyp1a1 を介した AhR 活性化経路が破骨細胞分化において重要な役割を果たし、炎症性骨代謝疾患における治療標的となることが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

The AhR ligand regulates bone homeostasis by regulating osteoclast differentiation via the AhR/Cyp1a1 signalling axis

○Yoshikawa Y, Izawa T, Kamioka H

Dept Orthodont, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

Bone loss due to smoking represents a major risk factor for osteoporosis. Signaling through the aryl hydrocarbon receptor (AhR) and its ligands contributes to both bone homeostasis and inflammatory diseases. It remains unclear whether the same AhR signaling axis affects the temporomandibular joint (TMJ). The aim of this study was to investigate possible mechanisms which mediate bone loss in the TMJ due to smoking. In particular, whether benzo[a]pyrene (B[a]P), a carcinogen of tobacco smoke, induces expression of the AhR target gene, Cyp1a1, in mandibular condyles. Possible functions of an endogenous ligand of FICZ, were also investigated in a TMJ-osteoarthritis (OA) mouse model. B[a]P was administered orally to wild-type and AhR^{-/-} mice and bone metabolism was subsequently examined. Therapeutic functions of FICZ were detected with μ CT and histology. Exposure to B[a]P accelerated bone loss in the mandibular subchondral bone. This bone loss manifested with osteoclastic bone resorption and upregulated expression of Cyp1a1 in an AhR-dependent manner. In mouse model of TMJ-OA, FICZ exhibited a dose-dependent rescue of mandibular subchondral bone loss by repressing osteoclast activity. Pre-treatment with FICZ reduced RANKL-mediated osteoclastogenesis. B[a]P regulates mandibular subchondral bone metabolism via the Cyp1a1. The AhR ligand, FICZ, can prevent TMJ-OA by regulating osteoclast differentiation.

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

1-P1-PM39 フェニトインの細胞内 Ca^{2+} 排出抑制作用による作動性 Ca^{2+} 応答の増強

○ 菱輪映里佳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、服用者の約 50% に歯肉肥大の副作用を起こすことが知られている。その発症には Ca^{2+} シグナルとの関連が提唱されており、PHT がヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) の細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) を上昇させることも報告されている。本研究では fura2/AM を使用したライブセルイメージング法を用いて、PHT による HGF の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇のメカニズム、および生理活性物質による HGF の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇と PHT の作用について解析した。

HGF に PHT (100 μM) を作用させると約 90% の細胞で $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が上昇した。この PHT による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇は、細胞外液に Ca^{2+} が存在しない条件でも認められた。次に、小胞体内 Ca^{2+} ポンプ阻害剤であるタプシガーギン (ThG) でストアを枯渇させた状態での PHT の作用を検証した。2 μM の ThG による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇後に 100 μM の PHT を添加すると、ThG 単独よりもさらに $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が上昇した。これらの結果から、PHT による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇は、細胞外からの Ca^{2+} 流入や細胞内 Ca^{2+} ストアからの Ca^{2+} 放出に依存しないことが明らかとなり、PHT による HGF の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇には細胞外への Ca^{2+} 排出阻害が関与する可能性が考えられた。通常、細胞外液 Na^+ を除去すると、 Na^+ - Ca^{2+} 交換体 (NCX) の逆回転によって $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が上昇する。この $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇が PHT によって抑制されたことから、PHT が NCX を抑制し $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇を惹起していると考えられた。PHT による細胞内の Ca^{2+} 排出の抑制は、様々な刺激による Ca^{2+} 反応を増強することが予想された。HGF を 1 μM の ATP または 3 μM のヒスタミンで刺激すると 20-50% の細胞で $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が上昇した。このとき ATP あるいはヒスタミンに反応しなかった多くの細胞が PHT 存在下の刺激によって $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が上昇反応を示した。

以上より、PHT が生理活性物質によって惹起される Ca^{2+} 応答を増強することが示された。このことから PHT と炎症性生理活性物質の相互作用が歯肉肥大の発症および増悪に関与する可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

The Inhibition of intracellular calcium excretion by phenytoin enhances agonist-induced calcium responses

○ Minowa E¹, Kurashige Y¹, Nezu A², Saitoh M¹, Tanimura A²

¹Div Pediatr Dent, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ²Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

Gingival overgrowth caused by phenytoin (PHT) is proposed to be associated with Ca^{2+} signaling; however, the mechanisms that increase the intracellular Ca^{2+} concentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) are controversial. We performed live-cell imaging analyses to elucidate the mechanism underlying the PHT-induced increase in $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in human gingival fibroblasts (HGFs). We found that PHT induced $[\text{Ca}^{2+}]_i$ elevation in the absence of extracellular Ca^{2+} . PHT also enhanced $[\text{Ca}^{2+}]_i$ elevation in HGFs depleted of intracellular Ca^{2+} stores by thapsigargin. These results indicate that neither influx of extracellular Ca^{2+} nor Ca^{2+} release from intracellular stores is involved in these $[\text{Ca}^{2+}]_i$ elevations. We also found that the PHT-induced $[\text{Ca}^{2+}]_i$ elevation was strongly attenuated in the absence of extracellular Na^+ , and that PHT reduced $[\text{Ca}^{2+}]_i$ elevations upon the removal of extracellular Na^+ . These results imply that PHT increases $[\text{Ca}^{2+}]_i$ of HGFs by suppressing the Na^+ - Ca^{2+} exchanger. It is expected that the reduction of Ca^{2+} efflux enhances Ca^{2+} responses evoked by various stimuli. Indeed, Ca^{2+} responses induced by 1 μM ATP or 3 μM histamine were enhanced in the presence of PHT. Our findings provide new insight into the importance of the interaction between PHT and inflammatory bioactive substances in Ca^{2+} responses and gingival hyperplasia.

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

1-P1-PM40 グリア細胞のカルシウム応答機構とそれに対する神経栄養因子の作用

○郷 賢治¹, 根津 顕弘², 谷村 明彦²

¹北医療大 歯 麻酔, ²北医療大 歯 薬理

アストロサイトは中枢神経における信号処理に関与する。本研究では、ラットグリア細胞由来のC6細胞と初代培養アストロサイトにカルシウムインジケータ(GCaMP)を発現させ、イメージング法を使ってCa²⁺動態を解析した。

C6細胞を3μM以上のATPで刺激すると細胞質全体で細胞内Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)の上昇が起こった。一方、1μM以下のATP刺激では、C6細胞は突起部に局限した[Ca²⁺]_i上昇が数分間隔で起こる局所的Ca²⁺オシレーションが起こった。この結果から突起部にはP2Y受容体が多く発現している可能性が考えられた。この突起部の局所的Ca²⁺応答はミトコンドリア透過性遷移孔(mPTP)阻害剤FCCPで抑制され、これを活性化するCAtrによって増加したことからmPTPの関与が示唆された。またこの低濃度ATPによる突起部の局所的Ca²⁺応答は、ラット大脳皮質から調整した初代培養アストロサイトでも観察された。初代培養アストロサイトはATPに加えてブラジキニン(30 pM-30 nM)でCa²⁺上昇が起こった。このブラジキニンによるCa²⁺上昇は、ATPとは反対に細胞体から突起に向かうCa²⁺応答であった。興味深いことに、初代培養アストロサイトにおけるATPやブラジキニンによるCa²⁺応答は、神経栄養因子(BDNF)によって増強した。アストロサイトをブラジキニン刺激すると100 pMで2%、300 pMで10%の細胞がCa²⁺応答を起こしたが、BDNF存在下で12時間培養した細胞では100 pMで71%、300 pMで91%の細胞が反応した。同様にATPでは0.3μMで5%、1μMで13%の細胞がCa²⁺応答を起こしたが、BDNF存在下で12時間培養した細胞では0.3μMで36%、1μMで61%の細胞が反応した。この結果は神経から放出される栄養因子によってアストロサイトの感受性が高まる新しい機能修飾機構である可能性が考えられる。このBDNFによるプリン受容体の感受性の亢進はアロディニアに関与する可能性が考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Calcium response in glial cells and enhancement by brain-derived neurotrophic factor

○Goh K¹, Nezu A², Tanimura A²

¹Div Dent Anesthesiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ²Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

Glial cells are known to modulate neural functions through the release of gliotransmitters. ATP is one of the gliotransmitters, and has been suggested to be involved in the communication among glial cells through an increase in intracellular Ca²⁺ concentration ([Ca²⁺]_i). In this study, we examined Ca²⁺ responses in rat glioma C6 cells and rat primary astrocytes using live cell imaging with genetically encoded Ca²⁺ indicators, GCaMP6s.

Stimulations of C6 cells with ATP at concentrations above 3 μM induced rapid increases in [Ca²⁺]_i in the cell body, whereas that with low concentrations of ATP (< 1 μM) induced localized elevations of [Ca²⁺]_i at cell processes. Similar local Ca²⁺ responses with low concentrations of ATP were also observed in primary cultured astrocytes. Our results suggest the involvement of P2Y receptors and mitochondrial permeability transition pore in the Ca²⁺ response in the cell process. Primary cultured astrocytes also showed increases in [Ca²⁺]_i with bradykinin (30 pM-30 nM), and we found that ATP- and bradykinin-induced Ca²⁺ responses were enhanced by brain-derived neurotrophic factor. This result may represent a novel mechanism of functional modulation of astrocyte sensitivity by factors released from nerves.

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

1-P1-PM41 中脳水道周囲灰白質腹外側部に位置するコリン作動性ニューロンに対するムスカリン受容体活性化の影響

○川崎 詩織, 中谷 有香, 小林 真之

日大 歯 薬理

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も変調をきたしている。前帯状皮質では抑制性ニューロンに発現するムスカリン性受容体が機械痛覚過敏に関与していることが報告されているが、いまだに中枢神経系におけるアセチルコリンの疼痛制御に対する役割の詳細は不明である。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、同部に位置するコリン作動性ニューロンの電気生理学的特徴とムスカリン性コリン受容体作動薬および拮抗薬による電気生理学的特性の変化について検討した。実験にはVGAT-Venus-ChAT-TdTomatoトランスジェニック・ラットを用いた。同ラットではvIPAGに存在するコリン作動性ニューロンがTdTomatoにより標識されていることから容易に同定できる。ムスカリン受容体の活性化にはcarbachol (10 μ M)を用い、遮断薬にはpirenzepine (M1拮抗薬; 10 μ M)とgallamine (M2拮抗薬; 20 μ M)を用いた。静止膜電位、入力抵抗、発火頻度を記録し、上記作動薬および拮抗薬の作用を評価した。すべての記録はホールセル・パッチクランプ法を用いて電流固定下で行った。Carbacholの投与は、静止膜電位を急速に過分極させ、入力抵抗及び発火頻度を減少させた。これらの効果は濃度依存的であった。Carbachol灌流投与後、各々の拮抗薬を投与したところ、過分極していた静止膜電位ならびに入力抵抗はcarbachol投与前まで回復した。以上の結果から、vIPAGにおいてM1及びM2受容体がコリン作動性ニューロンの神経活動制御に関与している可能性が示唆された。またcarbacholは急速に静止膜電位を過分極させたことから、ムスカリン受容体を介したコリン作動性ニューロンの活動調節にはG蛋白質活性化型内向き整流性カリウムチャネルの関与が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effects of muscarinic receptor activation on cholinergic neurons located in the ventrolateral periaqueductal gray matter

○Kawasaki S, Nakaya Y, Kobayashi M

Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

An involvement of inhibitory neuronal muscarinic receptors in mechanical hyperalgesia was reported in the anterior cingulate cortex, however, functional roles of cholinergic neurons of the other brain regions in pain regulation have been unknown. Here, we focus on the ventrolateral periaqueductal gray matter (vIPAG) which is one of the principal brain regions of the descending pain system. We recorded firing properties of cholinergic neurons in vIPAG, and examined effects of a muscarinic cholinergic receptor agonist, carbachol, and M1 and M2 antagonists, pirenzepine and gallamine, respectively, using VGAT-Venus-ChAT-TdTomato transgenic rats. Application of carbachol rapidly induced rapidly hyperpolarization of the resting membrane potential accompanying with decreases in firing frequency and input resistance (IR). These effects of carbachol were dose-dependent in the range of 0.01–10 μ M. Furthermore, administration of the muscarinic antagonists recovered the resting membrane potential and IR to the level of control. These results suggest that M1 and M2 receptors which are expressed in cholinergic neurons play an inhibitory role in the modulation of cholinergic neural activity in vIPAG by activating G protein-activated inwardly-rectifying potassium channels.

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

1-P1-PM42 ラット島皮質抑制性シナプス伝達におけるプリン受容体を介した増強作用

○小助川聖史¹, 山本 清文², 小林 真之²

¹日大 歯 矯正, ²日大 歯 薬理

生物のエネルギー源として知られている adenosine triphosphate (ATP)は、中枢神経系においてグリア細胞から放出され、シナプス伝達に可塑的变化をもたらすことが明らかになってきた。近年、ATPが作用するプリン受容体の大脳皮質における興奮性シナプス伝達についての研究は進んでいるが、抑制性シナプス伝達については未解明である。プリン受容体の一つであるP2受容体は、イオンチャネル型のP2X受容体とGタンパク質共役型受容体であるP2Y受容体に分類される。ATPは容易に加水分解されてADPとなるが、ADPはP2Y受容体にのみ作用することから、シナプス間隙に存在するATPがシナプス伝達を修飾するメカニズムは極めて複雑であることが予想される。そこで我々は、大脳皮質の抑制性シナプス伝達の可塑的变化に対するATPの役割を明らかにすることを最終的な目標に設定し、本研究では、ATPの投与に加えて、P2X受容体の選択的アゴニストである α , β -methylene ATP ($\alpha\beta$ mATP)の投与による島皮質抑制性シナプス伝達への影響を明らかにした。小胞型GABAトランスポーターに蛍光タンパク質venusが共発現する遺伝子改変ラットであるVGAT-Venusラット(生後2~4週齢)から急性脳スライス標本を作製し、ホールセル・パッチクランプ法にて島皮質の抑制性ニューロンである高頻度発火ニューロン(FS)と興奮性ニューロンである錐体細胞(PYR)を同時に記録し、単一抑制性シナプス後電流(uIPSC)に対するATPの作用を検討した。ATP(100 μ M)または $\alpha\beta$ mATP(100 μ M)の投与によりFSの発火頻度の上昇が認められた。さらに、uIPSCに対する効果を検討するためにFS \rightarrow PYRシナプスにて $\alpha\beta$ mATPを投与したところ、uIPSCの振幅を増大させるのみならず、洗い流し後においてもその作用が長期的に持続することが明らかになった。以上の結果より、P2X受容体の活性化は島皮質における抑制性シナプス伝達を長期的に増強する可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Purinergic receptor enhances inhibitory synaptic transmission in rat insular cortex

○Kosukegawa S¹, Yamamoto K², Kobayashi M²

¹Dept Orthodont, Nihon Univ Sch Dent, ²Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

Adenosine triphosphate (ATP), a biological energy source, has been shown to be released from glial cells in the central nervous system, resulting in plastic changes in synaptic transmission. In spite of the recent progress in roles of purinergic receptors in cerebrocortical excitatory synaptic transmission, their contribution to inhibitory synaptic transmission has been unknown. Setting the ultimate goal to clarify the role of ATP in neuroplastic changes in inhibitory synaptic transmission in the cerebral cortex, this study aimed to elucidate effects of ATP and α , β -methylene ATP ($\alpha\beta$ mATP), a selective agonist of P2X receptor, on inhibitory synaptic transmission in the insular cortex (IC). We performed multiple whole-cell patch-clamp recordings from fast-spiking cells (FS) and pyramidal cells (PYR) in IC from VGAT-Venus rats. Administration of ATP (100 μ M) or $\alpha\beta$ mATP (100 μ M) increased the spontaneous firing frequency of FS. Furthermore, $\alpha\beta$ mATP not only increased the amplitude of uIPSCs but also sustained the uIPSC potentiation even after washout of $\alpha\beta$ mATP. These results suggest that the activation of P2X receptors induces long-term potentiation of IPSCs in FS to Pyr synapses of IC.

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

1-P1-PM43 AQP5 発現量の異なるラットにおいてアセチルコリンによる血流変化は唾液分泌に重要な役割を果たす

○Akter Tahmina, Nezu Akihiro, Tanimura Akihiko

北医療大 歯 薬理

Acetylcholine-induced blood flow changes play important role for salivary secretion in different AQP5 expression rat strains

○Akter T, Nezu A, Tanimura A

Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

Purpose: Aquaporin 5 (AQP5) plays an important role for the transcellular fluid secretion in salivary gland cells. The AQP5 low expression rat (AQP5/low), established from Sprague-Dawley (SD) strain, has been used to examine the role of AQP5 in salivary secretions. In this study, we compared acetylcholine (ACh)-induced salivary secretion, blood flow (BF), and Ca^{2+} response in submandibular gland (SMG) in AQP5/low, SD and Wistar/ST rats. Materials & Methods: The expression of AQP5, TMEM16A, and NKCC1, angiotensin II (Ang II) receptor (AT_1R), and angiotensin-converting enzyme (ACE) in SMG were analyzed by Western blot and RT-PCR. $[Ca^{2+}]_i$ in dispersed SMG cells was examined by fluorescence spectrophotometer using fura-2. Secretions of whole saliva were examined by the cotton ball method, and the real-time monitoring of BF in SMG by the laser speckle BF imager were performed under anesthesia with continuous infusion of ACh. Results & Conclusions: The maximum secretions with high-dose of ACh (720-1440 nmol/min) in AQP5/low and Wistar/ST were ~70% of that in SD. The expressions of AQP5 in Wistar/ST were same level as that in AQP5/low, and much lower than that in SD, suggesting that the expression level of AQP5 determine the maximum rate of salivary secretions. Interestingly, however, the salivary secretions with low-dose of ACh (60-120 nmol/min) in Wistar/ST was two times higher than that of AQP5/low, and was comparable to that in SD. The ED_{50} values for ACh-induced salivary secretion in AQP5/low, Wistar/ST, and SD were 309, 102, and 134 nmol/min, respectively. These results suggest that ACh sensitivity in salivary secretion does not correlate with expression levels of AQP5. Monitoring of BF in SMG demonstrated that low-dose of ACh induced oscillatory changes in BF in all strains. The BF oscillations in AQP5/low were found mostly below the resting level, whereas that in Wistar/ST were found above the resting level. We also found that the expression of AT_1R and ACE in AQP5/low were significantly higher than that in Wistar/ST. These results suggest that ACh decreased BF through the Ang II-mediated vasoconstriction in AQP5/low, which caused a decrease in salivary secretion. On the other hand, EC_{50} values for ACh-induced $[Ca^{2+}]_i$ rise in these strains were almost same (~0.8 μM). Gene expressions of TMEM16A and NKCC1 of these strains were also same. These results indicate that the differences in salivary secretion with weak ACh-stimulation among these strains are attributable to the difference in BF rather than AQP5 expression level.

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

1-P1-PM44 遺伝子改変マウスを用いた唾液腺・涙腺・膵臓における Cdc42 の機能解析

○長瀬 春奈, 設楽 彰子, 大野 雄太, 柏俣 正典

朝日大 歯 薬理

【目的】低分子量 G タンパク質で RhoGTPase の一種である 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内輸送などで重要な役割を果たす。しかし、外分泌組織における役割は未だ不明な点が多い。我々は、Cdc42 がマウス顎下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明らかにした。本研究では、外分泌腺特異的な Cdc42 コンディショナルノックアウト (KO) マウスを用いて、外分泌機能をもつ 3 種類の組織 (三大唾液腺, 涙腺, 膵臓) における Cdc42 の役割を検討した。

【方法】雄性の遺伝子改変マウスにタモキシフェンを投与し、Cre-loxP システムにより外分泌腺特異的に Cdc42KO を誘導した。2 週間・4 週間・3 ヶ月経過後の組織重量, ピロカルピン (0.5 mg/kg, i. p.) 刺激時における唾液・涙液の分泌量, 空腹時血糖値を測定した。さらに、各外分泌組織の形態を観察した。

【結果と考察】タモキシフェン投与後 2 週間, 4 週間, 3 ヶ月経過後において、唾液量は経時的に減少し、3 ヶ月経過後では唾液分泌量がほとんど検出できないまでに至った。対照的に涙液分泌量の減少は認めず、体重あたりの分泌量はむしろ増加した。4 週間経過後の顎下腺, 涙腺, 膵臓の組織重量は減少し、特に膵臓で著しい重量の減少を認めた。一方で空腹時血糖値に差は認めなかったため、膵臓の萎縮は外分泌腺のみが消失し、膵内分泌機能は維持されていると考えられた。形態観察では、Cdc42KO の各外分泌腺において管腔構造の乱れを認めた。これらのことから、Cdc42 の外分泌組織に共通する役割として管腔構造の維持が考えられ、分泌機能における役割は組織で異なる可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Functional analysis of Cdc42 in salivary glands, lacrimal glands, and pancreas using genetically modified mice

○Nagase H, Shitara A, Ohno Y, Kashimata M

Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent

Cdc42 is a small GTPase and acts as a mediator of epithelial cell polarization. However, the role in exocrine tissues remains unclear. We previously reported that Cdc42 regulates secretory granule number and lumen formation in submandibular acinar cells. In this study, we used exocrine gland-specific Cdc42 conditional knockout (KO) mice to determine the role of Cdc42 in three exocrine tissues (salivary glands, lacrimal gland, and pancreas). Tamoxifen was administered to induce exocrine gland-specific Cdc42 mice by the Cre-loxP system. The saliva volume induced by pilocarpine decreased to half at 4 weeks after tamoxifen injection and almost to zero at 3 months. In contrast, there was no decrease in the tear volume. Tissue weights of the submandibular gland, lacrimal gland, and pancreas decreased, especially in the pancreas. On the other hand, no difference was observed in the fasting blood glucose level, suggesting that only exocrine cells disappeared and the pancreatic endocrine function was maintained. The morphology of the apical membrane and luminal structure was altered in acinar cells in Cdc42 KO. These results suggest that the maintenance of luminal structure could be a common role of Cdc42 in exocrine tissues, although the role in secretory function may differ among these tissues.

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

1-P1-PM45 歯原性上皮細胞株と歯髄幹細胞の自発的 Ca^{2+} 応答の発生機構と遺伝子発現変化の解析

○石田 成美, 仙葉 慎吾, 谷村 明彦

北医療大 歯 薬理

【目的】 歯の発生過程では、上皮系細胞と間葉系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細胞は歯原性上皮細胞由来の細胞株であり、歯髄幹細胞 (DPSC) との共培養によってエナメル芽細胞に分化することが知られている。本研究では、これらの細胞における Ca^{2+} 応答の発生機構と遺伝子発現調節における役割を解析した。

【方法】 実験にはカルシウムセンサータンパク質 (G-GECO, R-GECO) を安定的に発現させたSF2細胞とDPSCを用い、蛍光顕微鏡を用いて培養条件下でのイメージングで Ca^{2+} 応答を観察した。遺伝子発現はSF2細胞とDPSCをRT-PCR法で解析した。

【結果と考察】 SF2細胞では、自発的な Ca^{2+} 濃度の上昇が間欠的に認められた。この Ca^{2+} 応答の頻度がP2Y受容体阻害剤 (Suramin), ATP分解酵素 (Apyrase) によって約30-50%に低下した。また、FGF受容体阻害剤 (FIIN-2) や高濃度の高濃度の Gefitinib でも約20-40%に低下した。これらの結果から、SF2細胞の自発的 Ca^{2+} 応答には、P2Y受容体とFGF受容体を含むチロシン酸化内蔵型受容体の関与が示唆された。一方、DPSCでは、持続的な Ca^{2+} オシレーションが観察された。これは Gefitinib や高濃度の Suramin では抑制されず、リゾホスファチジン酸 (LPA) 阻害剤 (RO6842262) で強く抑制された。同様の Ca^{2+} オシレーションが、EGF や FGF を添加した無血清培地に LPA を添加することで再現された。またこの無血清培地に LPA を添加すると、24時間後に TGF β 3 と Notch3 の遺伝子発現が増強した。これらの結果から DPSC では、LPA 受容体とチロシン酸化内蔵型受容体の相互作用で起こる Ca^{2+} オシレーションが遺伝子発現の調節に関与する可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Mechanisms of spontaneous Ca^{2+} oscillation in dental epithelial cells and dental pulp stem cells and effects on gene expression

○Ishida N, Semba S, Tanimura A

Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

In tooth development, enamel and dentin are formed by the interaction of epithelial and mesenchymal cells. In this study, we stably expressed SF2 cells, a rat-derived dental epithelial cell line, and dental pulp stem cell (DPSC) calcium sensor proteins (G-GECO and R-GECO) to analyze the developmental mechanism of Ca^{2+} response in these cells. In SF2 cells, intermittent spontaneous increases in Ca^{2+} concentration were observed. These Ca^{2+} responses were inhibited by suramin, an inhibitor of P2Y receptors. In DPSCs, persistent Ca^{2+} oscillations were observed, which were inhibited by the lysophosphatidic acid (LPA) inhibitor RO6842262. The interaction of tyrosine phosphorylation-integrated receptors such as FGF was considered to be involved in these Ca^{2+} responses. In addition, the gene expression of Notch3 and TGF β 3 was enhanced in DPSC when LPA was added to serum-free medium supplemented with EGF and FGF. These results suggest that Ca^{2+} oscillation may be involved in the regulation of gene expression.

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

1-P1-PM46 透明化技術を用いた扁平上皮癌細胞による骨破壊と骨形成抑制のイメージング解析

○島谷 真梨¹, 谷村 明彦², 根津 顕弘²

¹北医療大 歯 組織再建口外, ²北医療大 歯 薬理

【目的】口腔悪性腫瘍はしばしば顎骨浸潤を認めるが、骨破壊メカニズムは未だよくわかっていない。本研究では、3種類の蛍光色素を用いて頭蓋骨の石灰化部位を経時的に染色し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて扁平上皮癌細胞による骨破壊像及び骨形成抑制の過程を解析したので報告する。【方法】4週齢の雄C3Hマウスにカルセイン(CL)20 mg/kg, その7日後にアリザリンレッド(AR) 40 mg/kgを腹腔内投与した。その翌日にマウス扁平上皮癌細胞(1×10^6)を頭頂骨直上に移植して癌骨浸潤モデルマウスを作成した。癌移植後2日, 6日, 9日にテトラサイクリン(TC) 40 mg/kgを腹腔内投与し, その翌日に頭頂骨を摘出してホルマリンで固定した。Scaleを用いて透明化し共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。【結果】癌移植3日後では外観からの膨隆は見られず皮下に長短径約3 mmの癌組織が確認された。癌は移植7日後に長短径約7 mm, 10日後では約10 mmの膨隆として認められた。癌移植3日後の癌発生部位の頭頂骨を共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ, CL層及びAR層に骨破壊像は見られなかったが, TC層の一部に非染色部位が認められた。7日後では, TC層, AR層, CL層に非染色部位が認められ, 10日後ではTC層はほぼ消失して, AR層, CL層の非染色部位が拡大した。【考察】TC層の染色性から癌組織の成長に伴って骨表面での骨形成が抑制されることが示唆された。また, CL層よりAR層で大きな骨破壊が見られた事から, 骨表面から深部に向かって骨吸収が進行することが示唆された。今後, ライブイメージング観察によって, 癌による骨浸潤や骨破壊の過程をより詳細に解析できると期待される。【結論】共焦点レーザー顕微鏡と透明化技術を用いた骨形成イメージングによって, 癌による骨破壊及び骨形成抑制の過程を可視化することができた。共同研究者 志茂剛

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Imaging analysis of bone destruction and bone invasion of squamous cell carcinoma cells using tissue clearing technology

○Shimatani M¹, Tanimura A², Nezu A²

¹Div Reconstruct Surg Oral Maxillofac Reg, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ²Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

Oral malignancies often present with jawbone invasion, but the mechanism of bone destruction is not well understood. In this study, we analyzed the effects of squamous cell carcinoma cells on bone metabolism using confocal laser microscopy and three bone-staining fluorescent dyes. 4-week-old male C3H mouse were treated with calcein (CL) and followed by alizarin red (AR) after the 7 day. Mouse squamous cell carcinoma cells (1×10^6) were then transplanted just above the parietal bone. 2 to 9 days later, tetracycline (TC) was administered, and the next day the skull was removed and clarified with Scale. Unstained areas of TC, an indicator of osteogenesis suppression, were already observed in the skull 3 days after cancer transplantation and expanded at 7th and 10th days. Unstained areas in the AR and CL layers, which are indicators of bone resorption, were observed at 7th days and enlarged at 10th days. Suppression of bone formation at the bone surface and greater bone destruction in the AR layer than the CL layer suggest that bone resorption proceeds from the bone surface toward the deeper layers.

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

1-P1-PM47 骨粗鬆症治療薬 PTH 製剤による骨微細構造および骨コラーゲンの整調効果の解明—新規蛍光イメージング解析による定量的トポロジー解析による骨質評価法の確立—

○佐藤 孝紀, 李 智媛, 飯村 忠浩

北大 院歯 薬理

【背景】骨粗鬆症治療薬 PTH 製剤:テリパラチド(TPTD)は、骨形成促進作用により骨強度を改善し、骨量低下による骨折の予防効果を示す。骨強度の改善には、骨量のみならず、骨の微細構造や生化学的特性など骨質の改善が重要である。骨量の画像解析技術は既に確立されているが、骨質を可視化・定量化する画像解析技術は十分に確立されていない。本研究では、ラットおよびカニクイザルの骨粗鬆症モデル動物を用いて、骨質を規定する骨微細構造パターンやコラーゲン線維のトポロジー特性を定量評価する手法を構築し、TPTD の骨質に対する薬理効果を検討した。

【方法】雌性ラット(13 週齢)およびカニクイザル(9~15 歳齢)に卵巣摘出術(OVX)を行い骨粗鬆症モデルとした。骨代謝マーカー、骨形態計測により、OVX 群、TPTD 投与群、偽手術群の比較検討を行なった。さらに腰椎を採取し非脱灰骨組織切片を作成し、カルセイン由来の新生骨蛍光シグナルと、骨コラーゲン由来の第 2 次高調波シグナルを、網羅的にイメージングした。さらに AI を活用した自動空間蛍光解析法を構築し、骨新生の空間パターンおよび骨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】新生骨形成面の連続性および骨コラーゲン線維の連続性が、TPTD 投与用量依存的に増大することが明らかとなった。この TPTD 投与による骨微細構造ならびに骨コラーゲン配列の整調効果は、骨に加わる荷重散逸機構を促進することで骨の柔軟性の向上に寄与し、骨強度の改善に貢献していると考えられた。本解析によって、骨質の重要な要因である骨微細構造パターンや骨コラーゲン線維のトポロジー特性を可視化・定量評価することが可能となった。また TPTD の薬理効果として、生理的コラーゲン架橋の回復のみならず骨微細構造および骨コラーゲン線維の整調効果が、骨強度の改善に寄与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, 徳永和明, 松森はるか

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Teriparatide administration harmonizes the arrangement of bone collagen and bone microstructure—a novel fluorescence analysis to evaluate bone quality—

○Sato T, Lee JW, Iimura T

Dept Pharmacol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Teriparatide (TPTD) is an anti-osteoporotic human PTH analogue that improves bone strength and prevents osteoporotic fractures through its anabolic effect on bone formation. Bone strength is defined not only by bone mass but also by bone quality, the latter of which attributes to micro-structure of bone tissue and biochemical property of bone materials. Imaging-based analytical method to quantitatively evaluate bone quality remains to be well established, although morphometrical methods of bone mass have been already routine. This study took an advantage of AI-based automatic morphometrical recognition and established methods to evaluate the spatial patterns of osteogenesis and the arrangements of bone collagen that significantly contribute to bone quality. We examined the pharmacological effect of TPTD on bone quality by taking rats and cynomolgus monkeys as osteoporosis models. Female rats aged 13-week and female cynomolgus monkeys aged 9 to 15-years were ovariectomized (OVX) or sham-operated, and then treated either with TPTD or with saline. Serum and urine bone markers, and bone histomorphometric parameters were compared as routinely. Furthermore, the spatial patterns of osteogenesis and bone collagen fibers were quantitatively analyzed by our unique AI-based analyses. Conclusively, TPTD harmonized the arrangement of bone collagen fibers and bone microstructure.

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

1-P1-PM48 脂質およびコレステロール摂取量がマウスの歯と骨の恒常性に及ぼす影響

○佐藤ゆり絵^{1,2,3}, 坂井 信裕^{2,3}, 唐川亜希子^{2,3}, 畔津 佑季^{2,3}, 茶谷 昌宏^{2,3}, 高見 正道^{2,3}
¹昭大 歯 障害者, ²昭大 歯 歯科薬理, ³昭大 歯 薬理科学研究セ

【目的】 食事による適切な栄養摂取は成長発育に不可欠だが、障害児はそのコントロールが難しく、過度の栄養摂取による肥満や高脂血症などの脂質代謝異常が課題の1つである。しかし、食事に含まれる脂質とコレステロールのバランスと骨代謝の関係を示唆した報告はこれまでない。本研究は、餌に含まれる脂質とコレステロールの配合比が歯と骨の恒常性維持に与える影響について検討した。【方法】 8週齢雄性マウス (C57BL/6J) に脂質量 (14, 36%) とコレステロール量 (0.01, 1.25, 5%) の異なる5種類の餌を与える実験群を設定した。各餌を12週間与え、安楽死後、血液採取と大腿骨頸骨、頭部を摘出し、血清脂質マーカーの測定、 μ CTおよび組織学的観察による骨形態計測を行った。また、各実験群のマウスの骨髓細胞から破骨細胞分化誘導培養を行い、qPCR法を用いて破骨細胞分化マーカーを解析した。【結果】 脂質 (36%) + コレステロール (0%) 餌群は標準餌 (脂質 5.4% + コレステロール 0%) 群と比較して、血糖値は高値だったが、 μ CT解析から大腿骨骨量 (BV/TV%), 骨密度 (BMD) に変化はなかった。脂質 (14%) + コレステロール (1.25 および 5%) 餌群も同様に変化はなかった。しかし、脂質 (36%) + コレステロール (1.25%) 餌群では、標準餌と比べ血糖値は正常値だが、総コレステロールと LDL 値が高値を呈し、さらに骨量と骨密度は有意な低下を認めた。一方、培養破骨細胞では、餌の種類による分化活性に有意な差は見られなかった。【考察】 本研究により、脂質とコレステロールがともに相当量含まれる場合、骨の恒常性維持の破綻を引き起こすことが示された。これは障害者の食事摂取の偏りが硬組織にも影響を及ぼす可能性があることが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effects of fat and cholesterol intake on tooth and bone homeostasis in mice

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

¹Div Dent For Persons with Disabilities, Showa Univ Sch Dent, ²Dept Pharmacol, Showa Univ Sch Dent, ³Dept Pharm Res Cent, Showa Univ Sch Dent

[Aim] Appropriate dietary nutrition is essential for growth, though difficult for handicapped children, resulting in such overnutrition-related problems as obesity and dyslipidemia. This study was conducted to examine the effects of dietary lipids and cholesterol on bone homeostasis maintenance. [Methods] Eight-week-old male mice (C57BL/6J) were fed five types of feed with different amounts of fat (14%, 36%) and cholesterol (0.01%, 1.25%, 5%) for 12 weeks. Blood, femur, tibia, and tooth samples were examined, and serum lipid markers and bone morphology were determined using μ CT and histological analysis. Additionally, bone marrow cells were cultured and osteoclast differentiation markers analyzed using qPCR. [Results] Mice fed a diet high in both fat (36%) and cholesterol (1.25%) showed increased total cholesterol and LDL in blood, and decreased BV/TV (%) as compared to the standard diet group. However, bone mass was unaffected in the high fat only (36%) and high cholesterol only (1.25%, 5%) groups. Mice given a high fat (36%) diet showed significantly narrowed incisor pulp. Osteoclast formation was not significantly different among the groups. [Discussion] These results suggest that a diet with high amounts of both fat and cholesterol induces bone loss. Thus, dietary changes for handicapped children can affect bone mass.

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

1-P2-PM01 オプトジェネティクス法による抑制性シナプス長期増強の手法の開発

○小林 理美^{1,2}, 山本 清文¹, 藤田 智史², 小林 真之¹

¹日大 歯 薬理, ²日大 歯 生物

口腔顔面領域の末梢神経障害が惹起する難治性の異常疼痛は、末梢から繰り返し入力する侵害刺激によって島皮質の神経回路に可塑的变化が生じることが要因の一つである。抑制性ニューロンの約半数を占める parvalbumin 陽性細胞 (PV 細胞) は、興奮性ニューロン (錐体細胞) との結合率が極めて高く、振幅の大きな抑制性シナプス後電流 (IPSC) を発生させることによって錐体細胞の活動を強力に抑制する。したがって、PV 細胞から錐体細胞への抑制性神経伝達を長期的に増強させることができれば、島皮質への異常な興奮入力を制御することによって異常疼痛を抑制することが可能になる。

我々は、PV 細胞→錐体細胞の単一シナプスレベルでの長期増強 (LTP) のメカニズムを明らかにしつつある。そこでその知見を生かして、光遺伝学的手法を用いて PV 細胞から錐体細胞への抑制性入力を長期的に増強させて島皮質の過興奮を抑える手法を開発することを目的とした。

実験には、channel rhodopsin-2 (ChR2) ならびに赤色蛍光タンパクを発現させるアデノ随伴ウイルス (AAV5-EF1 α -Flex-hChR2 (H134R)-mCherry; AAV) を LE-Tg (Pvalb-cre) 2Koba (+/m) PV ラットに注入した動物の急性脳スライス標本を用いた。島皮質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ところ、mCherry で標識された PV 細胞では、青色光照射による ChR2 の活性化によって活動電位が発生し、錐体細胞からは IPSC が記録できた。そこで、青色光照射の強度や持続時間、頻度を変化させて IPSC の LTP を誘発する条件を検討した。その結果、 θ バースト刺激に類似した刺激条件で LTP を誘発できることが明らかになった。また、グルタミン酸受容体拮抗薬存在下においても、LTP を誘発することができた。

以上より、島皮質において、オプトジェネティクスを用いて島皮質における IPSC を長期的に増強できることが明らかになった。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Development of a method for LTP of inhibitory synapses by optogenetics

○Kobayashi S^{1,2}, Yamamoto K¹, Fujita S², Kobayashi M¹

¹Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent, ²Dept Biol, Nihon Univ Sch Dent

Intractable abnormal pain caused by peripheral nerve damage in the orofacial area is due in part to plastic changes in the insular cortex (IC). Parvalbumin-immunopositive neurons (PVNs) suppress excitatory neurons including pyramidal neurons (PNs). Therefore, we hypothesize that long-term potentiation (LTP) of inhibitory synapses could make it possible to suppress abnormal pain by increasing inhibitory feedback in IC. This study aimed to find the optogenetic approach that induces LTP in IC PVNs-PNs. Using the adeno-associated virus (AAV5-EF1 α -Flex-hChR2 (H134R)-mCherry; AAV) and LE-Tg (Pvalb-cre) 2Koba (+/m) PV rats, we selectively activated PVNs by blue light application in IC slice preparations. Indeed, blue light application certainly induced action potentials in PVNs, which resulted in IPSC induction in PNs. Next, we investigated the protocol inducing LTP of IPSCs by adjustment of the intensity, duration, and frequency of blue light application. We found that the stimulus condition similar to theta burst stimulation could induce LTP effectively. In addition, LTP could be induced in the presence of glutamate receptor antagonists, suggesting that AMPA and NMDA receptors do not contribute to the induction of LTP. In the future, it may be possible to treat abnormal pain by controlling synaptic plasticity by optogenetics.

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

1-P2-PM02 急性持続性疼痛の動物モデルを用いた、三叉神経支配領域における痛みの日内変動の解析

○新納 彩子¹, 大野 幸¹, 富田 和男², 倉本恵梨子³, 中村 渉⁴, 杉村 光隆¹

¹鹿大院医歯 歯科麻酔全身管理, ²鹿大院医歯 応用薬理, ³鹿大院医歯 機能形態,
⁴長大院医歯薬 加齢口腔生理

【目的】近年、疾患の原因解明や治療戦略に体内時計機構に関する研究で得られた知見を応用する試みが始まっている。誰もが経験する「痛み」の研究においても、痛覚の日内変動に言及した臨床報告が見受けられるようになり、時間の概念を取り入れた上で診断と治療を行うことの重要性が認識され始めている。そこで本研究では、これまでの「痛み」の研究に時間生物学的な視点を加えることで、より効果的な治療方法や制御方法を確立するための基礎的な知見を提供することを目的とした。

【材料と方法】実験動物として10週齢の雄性マウスを準備し、室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、12時間ごとの明・暗サイクル（明期:6-18時、暗期:18-6時）下で10日間以上馴化した。飼料・水は自由摂取とした。馴化した動物を実験ケージに入れ、30分後、三叉神経の第二枝領域に5%ホルマリンまたは生理食塩水 $10 \mu\text{l}$ を皮下注射し、注射後疼痛関連行動の持続時間を45分間評価した。その後灌流固定を行い、侵害受容マーカーであるc-Fosの発現を免疫組織化学染色により検討した。また上記同条件下で飼育した別のマウスから明期、暗期において三叉神経節を取り出し、ホルマリンの受容に関係するTRPA1の発現を定量PCRにて調べた。実験は明期と暗期のそれぞれで行った。

【結果】疼痛関連行動は、ホルマリン群において明期に比べ暗期で有意に長かった（ 128.6 ± 24.0 vs 203.6 ± 19.4 ）。またホルマリン群ではc-Fosの発現も暗期の方が有意に多かった（ 14.5 ± 6.5 個 vs 33.3 ± 10.1 個）。さらに、定量PCRでTRPA1の遺伝子発現を調べたところ、明期に比べ暗期でその発現が有意に高かった。

【考察】これらの結果から、三叉神経領域の疼痛の感受性は昼夜で差があること、その感受性がTRPA1の発現量と相関していることが示された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Diurnal variation in trigeminal pain sensitivity in mice

○Niuro A¹, Ohno S¹, Tomita K², Kuramoto E³, Nakamura W⁴, Sugimura M¹

¹Dept Dent Anesthesiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ³Dept Anat Oral Sci, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁴Dept Oral Chrono-Physiol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Management of time and circadian disruption is an extremely important factor in basic research on pain and analgesia. Although pain is known to vary throughout the day, the mechanism underlying this circadian variation remains largely unknown. Ten-week-old male mice were kept under a strict 12-hour light/12-hour dark cycle for at least ten days. Formalin was then injected into the second branch region of the trigeminal nerve and the duration of pain-related behaviors (PRBs) was assessed. Immunohistochemical staining was then performed, and the c-Fos-immunopositive cells in the trigeminal spinal tract subnucleus caudalis (Sp5C) were counted. The results showed that the duration of PRBs was longer and the number of c-Fos immunopositive cells in the Sp5C was higher at nighttime than during the day. In addition, the trigeminal ganglia (TG) were extracted from the mice and examined by quantitative real-time PCR to evaluate the daytime and nighttime expression of nociceptive receptors. The results showed that the mRNA expression of transient receptor potential ankyrin 1 in the TG was significantly higher at night than during the day. These results suggest that pain in the trigeminal nerve region is more intense at nighttime than during the daytime, partly due to differences in nociceptor expression.

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

1-P2-PM03 オリゴデンドロサイトの産生する IL-33 は Fyn 依存的な GluN2B のリン酸化を介して口腔顔面領域神経障害性疼痛を促進する

○木村 有貴^{1,2}, 林 良憲¹, 篠田 雅路¹

¹日大 歯 生理, ²日大 歯 口外 I

抜歯やインプラント埋入等の口腔領域外科処置によって生じる偶発症として神経障害性疼痛が挙げられる。患者の QOL を著しく低下させるため、適切な治療が必要であるが、神経障害性疼痛のメカニズムは十分に解明されていない。近年、痛みにおける interleukin (IL)-33 の関与が示唆されていることから、本実験では、口腔顔面領域の神経障害性疼痛における IL-33 の関与について検討した。C57BL/6J マウスの眼窩下神経損傷モデル (IONI) を作製した。IONI 後、口髭部皮膚に対する von Frey フィラメント刺激により頭部引っ込め反射閾値 (HWT) の顕著な低下を認めた。また、これと相関して三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) における IL-33 陽性細胞数の増加を認めた。IL-33 は Vc のオリゴデンドロサイトに局在しており、IL-33 受容体はニューロンに局在していた。IONI 後に生じる HWT の低下は IL-33 中和抗体の大槽内投与により改善した。一方で、正常マウスに対する IL-33 大槽内投与により、顕著な HWT の低下が認められた。IL-33 誘発性の HWT 低下は NMDA 受容体 GluN2B サブユニット阻害薬である Ro25-6981 の大槽内投与によって緩和された。また、IL-33 の大槽内投与により、Vc 領域における synaptosomal 分画の GluN2B のリン酸化および GluN2B 電流の増強を引き起こした。これらの変化にアストロサイトやミクログリアなどのグリア細胞の関与は認められなかった。IL-33 の大槽内投与により、Fyn キナーゼの Tyr416 のリン酸化が認められ、このリン酸化の阻害により GluN2B のリン酸化の抑制が認められた。また、Fyn キナーゼ阻害薬により IL-33 誘発性の MWT 低下が抑制された。以上の結果より、IL-33 は NMDA 受容体を介したシナプス伝達の増強により神経障害性疼痛に寄与する可能性が示唆された。IL-33 シグナル伝達を標的とした口腔顔面領域の神経障害性疼痛に対する治療的介入の可能性が期待される。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Oligodendrocyte-derived IL-33 promotes orofacial neuropathic pain

○Kimura Y^{1,2}, Hayashi Y¹, Shinoda M¹

¹Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent, ²Dept Oral Maxillofac Surg, Div Oral Surg, Nihon Univ Sch Dent

Orofacial neuropathic pain is an intractable symptom, which accompanied by oral surgery. The underlying mechanisms of neuropathic pain are not fully understood. Here, we found that interleukin (IL)-33, which was exclusively expressed in oligodendrocyte, was upregulated in the trigeminal spinal subnucleus caudalis (Vc) after infraorbital nerve injury (IONI) in C57BL/6J mice. The expression of ST2 was restricted in neurons in the Vc. The decrease in HWT following IONI was significantly ameliorated by neutralization of IL-33 in the Vc. Conversely, intracisternal administration of IL-33 caused a reduction in HWT in naive mice. The reduced HWT caused by intracisternal administration of IL-33 was relieved by intracisternal administration of an antagonist of NMDA receptor GluN2B subunit. IL-33 also caused GluN2B phosphorylation and the enhancement of GluN2B-mediated synaptic currents in the Vc. Further analyses revealed that IL-33 caused phosphorylation of Tyr416 in Fyn kinase in the Vc, and this inhibition suppressed GluN2B phosphorylation. In addition, IL-33-induced reduction in the MWT was completely blocked by the pretreatment of Fyn kinase inhibitor. These results suggest that IL-33 potentiates synaptic transmission through NMDA receptors and causes orofacial neuropathic pain. IL-33 signaling is a promising target for therapeutic intervention for neuropathic pain in the orofacial region.

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

1-P2-PM04 雄性マウス分界条床核ニューロン活動の抑制が味覚嫌悪学習の想起に及ぼす影響

○菊池 媛美^{1,2}, 乾 賢¹, 蘇 韶懿¹, 船橋 誠¹

¹北大 院歯 口腔生理, ²北大 院歯 矯正

分界条床核は味覚嫌悪学習 (conditioned taste aversion, CTA) の中枢神経機序に関与しているが, その想起における役割は不明である. 抑制性 DREAD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs) である変異型ムスカリン受容体 (hM4Di) を雄性マウスの分界条床核に導入し, ニューロン活動の抑制が CTA の想起に及ぼす影響を調べた. 16 匹の C57/BL6 雄性マウスの分界条床核に AAV8-hSyn-hM4Di-mCherry (0.5 ul/side) を注入した. 飲水訓練を 1 週間行った後, 条件刺激として 0.2% サッカリン溶液を 15 分間呈示した直後に, 無条件刺激として 0.3 M 塩化リチウム (20 ml/kg) を腹腔内投与し, 条件づけを行った. その後の 3 日間のテストにおいて, 1 日目では, 全てのマウスが著明な CTA を獲得したことを確認した. テスト 2 日目では, サッカリン溶液呈示の 30 分前に, 実験群 9 匹に hM4Di の選択的リガンドであるクロザピン N-オキシド (CNO) (1 mg/kg, 0.5% BW) を, 対照群 7 匹に生理食塩水 (0.5% BW) を腹腔内投与した. 対照群はテストの回数を重ねる毎にサッカリン溶液の摂取量が増加した. 一方, 実験群ではサッカリンの摂取量が減少した個体 (n=4) と増加した個体 (n=2) が存在した. サッカリン溶液の摂取量が減少した個体では hM4Di 発現細胞が分界条床核の前部に, 増加した個体では後部に分布していることを組織学的検証によって確認した. 実験群のうち hM4Di の導入が不十分であった個体 (n=3) と対照群の間に差はみられなかった. 以上の結果から, 雄性マウスにおいて分界条床核ニューロンの不活性化が条件刺激に対する嫌悪を増強または減弱させることが明らかとなった. hM4Di 発現細胞の分布部位によって CNO 投与の効果に違いがみられたことから, 分界条床核の前部と後部では CTA の想起に関して担う役割が異なる可能性が示唆された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Effects of inhibition of neuronal activity in the bed nucleus of the stria terminalis on the retrieval of conditioned taste aversion in male mice

○Kikuchi E^{1,2}, Inui T¹, Su S¹, Funahashi M¹

¹Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ²Dept Orthodont, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

The bed nucleus of the stria terminalis (BNST) constitutes a part of the central nervous system of conditioned taste aversion (CTA). However, the role of the BNST on the retrieval of CTA remains unclear. We investigated the effects of inhibition of the neuronal activity of the BNST on the consumption of a learned aversive taste solution using hM4Di DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs). Male mice transfected with AAV8-hSyn-hM4Di-mCherry (0.5 ul/side) in the BNST received a pairing of a 0.2% saccharin solution as a conditioned stimulus (CS) and a malaise-inducing lithium chloride (0.3 M, 2% BW, i. p.). Intraperitoneal administration of the DREADD-selective ligand clozapine-N-oxide (CNO) induced smaller (n=4) or larger (n=2) intake of the CS, compared to the saline-administered mice. Histological examination showed hM4Di-expressing cells distributed in either of the anterior or posterior parts of the BNST. Inhibition of the anterior part of the BNST decreased the CS intake, while that of the posterior part increased it. These results suggest that neuronal activity in the BNST mediates aversion to CS on the CTA retrieval. It was suggested that the role of the BNST on the CTA retrieval might differ between the anterior and posterior parts.

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

1-P2-PM05 離乳後のラット咀嚼筋活動の長期的変化

○山田 雅治¹, 片桐 綾乃¹, 増田 裕次³, 佐藤 元⁴, 豊田 博紀¹, 丹羽 均²,
加藤 隆史¹

¹阪大 院歯 口腔生理, ²阪大 院歯 麻酔, ³松歯大 院歯 顎口腔機能, ⁴明海大 歯 薬理

【目的】離乳後の咀嚼機能の発達のメカニズムについては不明な点が多い。本研究では同一個体で、離乳から長期的に咀嚼筋活動を記録し、咀嚼運動の発達の過程を筋電図的に明らかにする実験法を確立することを目的とした。

【方法】外科処置：10日齢のSD雄性ラット(n=5)の咬筋、側頭筋に筋電図用ワイヤー電極を設置し、21日齢で離乳した。

記録：咀嚼中の筋電図記録を生後21日から42日の期間に実施した。試験飼料としてペレット(直径4mm)とパスタ(直径1.2mm)を用いた。

解析：ペレット咀嚼時間としてペレットを咀嚼する時間を、パスタ咀嚼量として30秒間に摂取したパスタの重量を測定した。各飼料咀嚼中の筋電図波形を、整流、平滑化、ダウンサンプリングし、次の波形解析を行った。咀嚼リズムは、咬筋筋電図波形にFFT(FFT size 2048, Hanning窓)を行い、最大パワー値を示す周波数値とした。また、咬筋と側頭筋の筋活動の相動性として、相互相関解析を行い、相関係数が最大となる時間(Lag)を算出した。

【結果】21日齢から42日齢にかけて、ペレット咀嚼時間は 159.3 ± 33.6 (平均±標準偏差)秒から 33.2 ± 4.4 秒に短縮($P < 0.01$)し、パスタ咀嚼量は 2.2 ± 0.6 mg から 27.1 ± 14.9 mg へと増加($P < 0.01$)した。ペレット咀嚼の咀嚼リズムは、 4.0 ± 0.2 Hz から 4.5 ± 0.4 Hz へと13%増加($P = 0.028$)し、パスタ咀嚼の咀嚼リズムは 4.7 ± 0.4 Hz から 6.5 ± 0.6 Hz へと38%の増加($P < 0.01$)を示した。咬筋と側頭筋の筋活動の相動性は、ペレット咀嚼のLagが 0.05 ± 0.01 秒から 0.03 ± 0.01 秒へと40%減少($P < 0.01$)した一方、パスタ咀嚼のLagはほぼ0秒で一定($P = 0.9$)であった。

【考察】本研究では、同一個体において、離乳後の咀嚼運動を筋電図学的に21日間にわたり記録し、咀嚼筋活動の特性の変化を定量化する方法を確立した。咀嚼運動の様式は離乳直後から21日間で大きく変化し、その変化は飼料性状によって異なる可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Longitudinal changes of masticatory muscle activities after weaning in rats

○Yamada M¹, Katagiri A¹, Masuda Y³, Sato H⁴, Toyoda H¹, Niwa H², Kato T¹

¹Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, ²Dept Dent Anesth, Osaka Univ Grad Sch Dent, ³Dept Oral Maxillofac Biol, Grad Sch Oral Med Matsumoto Dent Univ, ⁴Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent

[Purpose] This study attempted to establish a method for investigating developmental changes of masticatory function in the same developing rats.

[Method] Rat pups received surgery for placement of EMG electrodes in the masseter and temporal muscles on the postnatal day 10 (P10). From P21 to P42, EMG and video recordings were performed in the plexus cage. Small-sized pellets and pasta sticks were given to the rats after fasting. The time for finishing a pellet and the amount of pasta eaten in 30 seconds were measured. Masticatory rhythms were assessed by fast fourier transform analysis and lags between the two muscle activities were calculated by cross-correlation analysis.

[Result] From P21 to P42, the time for finishing a pellet was reduced by 80% while the amount of pasta eaten was increased by 12 times. Masticatory rhythm showed a larger increase for pasta (38%) in comparison to that of pellet (13%). Lag between the two muscle activities for pellet was decreased by 40% while it did not change for pasta.

[Discussion] The results demonstrate longitudinal recordings of masticatory muscle EMG activity in a single growing rat after weaning and show the changes in masticatory performance.

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

1-P2-PM06 エメチンおよびシスプラチンによる条件付け味覚忌避における最後野の役割

○蘇 韶懿, 保浦 七愛, 吉澤 知彦, 乾 賢, 船橋 誠
北大 院歯 口腔生理

Possible role of the area postrema in emetine- and cisplatin-induced conditioned taste avoidance

○Su S, Yasuura N, Yoshizawa T, Inui T, Funahashi M

Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Purpose:The present study investigated the effects of area postrema lesions and bilateral subdiaphragmatic afferent vagotomy on emetine- and cisplatin-induced taste avoidance in rats, to demonstrate the induction mechanism of nausea and/or emesis by these drugs.

Materials & Methods:Male Sprague-Dawley rats (6-7 weeks old) were used. We evaluated the emetine-induced conditioned taste avoidance (CTA) by measures of saccharin consumption in 3 groups of animals: a bilateral subdiaphragmatic afferent vagotomy group (VX), an area postrema lesion group (APX), and a sham lesion group (Sham), and cisplatin-induced CTA in rats with both area postrema lesions and vagotomy and rats with sham surgery. After acclimatization to water deprivation, rats were conditioned with 1% saccharin solution paired with the administration of cisplatin (3 mg/kg, 1% BW, i. p.) or emetine (5.54 mg/kg, 1% BW, i. p.). Some rats had pre-administration of dexamethasone (1 mg/kg, 0.1% BW, i. p.) 30 minutes before the administration of cisplatin. The saccharin intake for 30 minutes on each test day was compared with that on the conditioning day using Dunnett's multiple comparison test. P value less than 0.05 is considered statistically significant. All data are represented as mean \pm SEM.

Results & Conclusion:Both emetine and cisplatin produced CTA in all rats in the sham group (n=5 in each). The emetine-induced CTA was produced in the VX group, but not in the APX group (n=5 in each). Although cisplatin-induced CTA was still produced in rats with both area postrema lesions and vagotomy (n=4), pretreatment with the administration of dexamethasone 30 minutes before the conditioning significantly suppressed cisplatin-induced CTA on test days 1 and 2 (n=6). These results suggest that 1) the input via the area postrema is essential to the induction of emetine-induced CTA, 2) cisplatin-induced CTA may be produced by different neural pathways from that induced by emetine, and 3) dexamethasone may interfere with the production of cisplatin-induced CTA via the action site except the area postrema and vagal afferent inputs.

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

1-P2-PM07 麻酔ラットへのアトロピン投与がもたらす蒸留水誘発嚥下の変調効果

○中嶋 優太, 辻村 恭憲, 那小屋公太, 吉原 翠, 川田 里美, 筒井 雄平,
井上 誠

新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ

目的：抗コリン作用薬の副作用として摂食嚥下機能への影響が懸念されている。本研究は、ムスカリン性アセチルコリン受容体 (mACh-R) 遮断薬であるアトロピンが嚥下誘発に与える影響を検証した。方法：ウレタン麻酔 SD 系雄性ラット (n=70) を対象とし、左側舌骨上筋および甲状舌骨筋より筋電位を導出し嚥下活動を記録した。嚥下誘発のために化学刺激として蒸留水、生理食塩水、クエン酸 (10^{-2} M)、カプサイシン (10^{-9} - 10^{-5} M) 各 3 μ l を声帯上に滴下した。また、機械刺激として喉頭へのエアフロー刺激 (8 ml/s, 10 秒)、電気刺激として右側上喉頭神経 (SLN) 刺激 (4.8-125 μ A, 30 Hz, 10 秒) を行った。前処置としてアトロピン (アトロピン群, 0.01-10 mg/kg)、アトロピンと同様の効果を有するが血液脳関門を通過しないメチルアトロピン (メチル群, 1 mg/kg)、生理食塩水 (生食群) を静脈内投与し、処置前後の嚥下回数を比較した。繰り返し投与による嚥下誘発への影響を懸念し、クエン酸およびカプサイシン刺激は別群間で比較した。結果と考察：アトロピン群 (1 mg/kg) では、蒸留水誘発嚥下回数は処置後有意に増加し、メチル群、生食群では変化がなかった。一方、生理食塩水およびエアフロー誘発嚥下回数は、両群とも処置前後で有意な差はなかった。クエン酸およびカプサイシン誘発嚥下回数においては、両群間で有意な差を認めなかった。SLN 刺激誘発嚥下閾値はアトロピン群で有意に低下し、生食群では変化がなかった。以上の結果から、アトロピンによる嚥下誘発効果は脳内に発現する mACh-R が関与していると示唆された。今後は、関連脳領域と mACh-R サブタイプの同定を行う予定である。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Atropine facilitates initiation of swallowing evoked by distilled water in anaesthetized rats

○Nakajima Y, Tsujimura T, Nagoya K, Yoshihara M, Kawada S, Tsutsui Y, Inoue M

Div Dysphagia Rehabil, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Purpose: This study aimed to investigate the effect of atropine on the initiation of swallowing. Material and Methods: Experiments were carried out on 70 urethane-anesthetized Sprague-Dawley male rats. Swallowing reflex was evoked by either topical laryngeal application of 3 μ l of distilled water (DW), saline, citric acid or capsaicin, laryngeal mechanical stimulation with a continuous airflow or electrical stimulation of the right side of superior laryngeal nerve (SLN). A swallow was identified by electromyographic burst of the left side of suprahyoid and thyrohyoid muscles. The number of evoked swallows was compared between before and after intravenous administration of the following reagents: muscarinic acetylcholine receptor (mAChR) antagonist atropine (0.01-10 mg/kg), methylatropine (a CNS-impermeant form of atropine, 1 mg/kg) or saline (the solvent for both reagents). Results & Conclusions: After atropine administration, the number of DW-evoked swallows was significantly larger than baseline (before administration) while that of saline and airflow-evoked swallows did not differ from baseline. Atropine also did not change the number of citric acid- and capsaicin-evoked swallows compared with control rats. The swallowing threshold of SLN stimulation was significantly lower following atropine administration than baseline. These results suggest that atropine facilitates DW-evoked swallows via the central mAChR actions.

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

1-P2-PM08 外側網様核刺激による嚥下反射の減弱

○坂詰 智仁¹, 佐藤 義英², 村川亞里紗², 大越 章吾¹

¹日歯大新潟 内科, ²日歯大新潟 生理

【目的】 演者らは、赤核の電気・化学刺激により嚥下反射が減弱することを報告した。外側網様核は、赤核から投射を受けていることが明らかになっている。また、外側網様核から弧束核への直接投射はないものの、外側網様核と弧束核で間接的な神経線維連絡は存在する。そこで、本研究は外側網様核刺激により、嚥下反射が変調されるか検索した。**【方法】** 実験にはウレタン麻酔下ラットを用いた。顎舌骨筋から筋電図を記録し、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た。最初に上喉頭神経単独刺激を行い (pre-control), 次に上喉頭神経と外側網様核 (0.2 ms duration, 30 Hz, 10 s, 100 μ A) または外側網様核周辺の同時刺激を行った。最後に上喉頭神経単独刺激を再び行った (post-control)。そして嚥下回数および嚥下開始時間を計測した。実験終了後、脳切片を作成しニッスル染色を行い、刺激部位を組織学的に確認した。**【結果】** 上喉頭神経と外側網様核の同時刺激中、pre-control または post-control と比較し、嚥下回数は有意に減少し、嚥下開始時間は有意に増加した。また pre-control と post-control 間では、嚥下回数と嚥下開始時間に有意差はなかった。上喉頭神経と外側網様核周辺の同時刺激は、嚥下回数と嚥下開始時間に影響を与えなかった。**【考察】** 外側網様核は、嚥下反射の制御に関与していることが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Suppression of the swallowing reflex by stimulation of the lateral reticular nucleus

○Sakazume T¹, Satoh Y², Murakawa A², Ohkoshi S¹

¹Dept Int Med, Nippon Dent Univ at Niigata, ²Dept Physiol, Nippon Dent Univ at Niigata

The previous study reported that the swallowing reflex was suppressed by stimulation of the red nucleus. Morphological studies have demonstrated that the lateral reticular nucleus (LRN) receives projection fibers from the red nucleus. This study examines whether the swallowing reflex is modulated by stimulation of the LRN. These experiments were performed on rats anesthetized by urethane. The swallowing reflex was evoked by repetitive electrical stimulation of the superior laryngeal nerve (SLN). Electrical stimulation was applied to the LRN. During recording sessions, the SLN and the LRN were simultaneously stimulated. As a control, the SLN was solely stimulated before and after the simultaneous stimulation. After each recording, the stimulus sites were confirmed histologically. The LRN 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 present study suggests that the LRN is involved in the control of the swallowing reflex.

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

1-P2-PM09 歯肉の自律神経性血管反応における部位特異性とそれらの相互作用の解明

○岡田悠之介¹, 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

[目的] 歯肉の血流動態が歯肉の免疫力の向上や創傷の治癒に重要な因子の一つとして注目されている。また、これらの歯肉の機能は歯間乳頭、遊離歯肉と付着歯肉で異なる事も報告されているが、歯肉の血流動態と機能特性との関係は明確にされていない。歯肉には血流を急峻かつ広範囲に増加させる副交感性血管拡張線維と血管トーンスを持つ交感性血管収縮線維が存在する。したがって、自律神経性血流調節とそれらの相互作用は歯肉の機能に重要であると考えられる。しかしながら、これらの血管反応と歯肉の機能特性との関連性は十分に検討されていない。そこで、本研究は歯肉の自律神経性血管反応の部位特異性の有無とそれらの相互作用を明らかにすることを目的とした。[方法] 実験には、麻酔下で人工呼吸にて管理されたラットを用いた。歯間乳頭、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。副交感神経の活性化は三叉神経の求心性刺激による反射法で行い、頸部交感神経は末梢性電気刺激を用いて活性化した。[結果] 舌神経の求心性刺激は、各部位の歯肉に顕著な血流増加を誘発したが、これらの血流増加は歯間乳頭で最も大きかった。舌神経刺激による血流増加は自律神経節遮断薬のヘキサメトニウム(約90%)、ムスカリン受容体遮断薬のアトロピンにより有意に抑制された(約50%)。頸部交感神経刺激は各部位に有意な血流減少を誘発するとともに、舌神経刺激による血流増加を顕著に抑制した。[結論] 三叉神経の求心性入力を介する副交感性血管拡張は、特に歯間乳頭の血流調節に重要であることが明らかになり、この血管拡張のメカニズムにはコリン及び非コリン作動性の血管拡張線維が関与していることが示唆される。また、過度の交感神経活動は、歯肉の副交感性血管拡張を顕著に抑制することが示され、この抑制作用が諸種の歯周疾患の病態に密接に関与することが示唆される。

[利益相反] 利益相反状態にはありません。

Site-specific autonomic vasomotor responses and their interactions in rat gingiva

○Okada Y¹, Saitoh M¹, Ishii H²

¹Div Pediatr Dent, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ²Div Physiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

Blood flow (BF) in the gingiva, which consists of interdental papilla (IPBF) and attached (AGBF) and marginal gingiva (MGBF), is essential in the maintenance of gingival function and is modulated by risk factors that may lead to periodontal disease. Marked BF changes mediated by the autonomic nervous system may be necessary for gingival hemodynamics. However, differences in autonomic vasomotor responses in different parts of the gingiva are unclear. We examined differences in autonomic vasomotor responses and their interactions in the gingiva of anesthetized rats. Electrical stimulation of the central cut end of the lingual nerve (LN) elicited frequency-dependent increases in IPBF, AGBF, and MGBF, with the increases being greatest in the IPBF. The increases evoked by LN stimulation were greatly reduced by hexamethonium (90%) and atropine (50%). Activation of the superior cervical sympathetic trunk decreased the gingival BF and significantly inhibited LN stimulation-induced BF increases. Our results indicate that parasympathetic reflex vasodilation evoked by trigeminal afferent inputs are more involved in the regulation of IPBF than AGBF or MGBF and that cholinergic and noncholinergic mechanisms may contribute to the responses. Further, sympathetic inhibition of the parasympathetic vasodilations may play an important role in the etiology of periodontal diseases.

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

1-P2-PM10 ステロイド軟膏による口内炎疼痛抑制機序の解明

○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式会社

口内炎は多くの人を経験したことのある粘膜疾患である。治療薬にステロイド軟膏がよく処方されるが、口内炎疼痛への効果は意見の一致をみず、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を口内炎モデルラットを用いて検討することを目的とした。ステロイドの確実な奏効には軟膏基剤の口腔内での長期残存が必要であると考へ、プラスチック (PB)、トラフル軟膏基剤 (TO) など多種の軟膏基剤の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、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、ステロイドのトリアムシノロンアセトニド (Tmc) を添加して実験を行った。雄性 Wistar ラットに酢酸誘発性口内炎を作製した。軟膏を 2 回塗布した後、各群に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) 標的遺伝子と *TNF- α* 、*COX-2* の遺伝子発現を定量性 RT-PCR、ET-1 と PGE₂ のタンパク質量を ELISA で定量した。短時間および長時間の Tmc 作用に対する高張機械刺激 (Hyper) および TRPA1 アゴニスト (AITC) 誘発応答への影響を調べるため、ラット三叉神経節細胞に Ca²⁺ イメージングを行った。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 群より増加し、*TNF- α* と *COX-2* は低下した。PGE₂ は TO + Tmc 群で有意に低下した。低残留性軟膏 (PB + Tmc) 群は作用なし、作用があってもわずかであった。Ca²⁺ イメージングの結果、Tmc 長時間作用で Hyper と AITC による反応細胞は有意に減少し、AITC による Ca 応答も低下した。本研究により、口内炎治療用軟膏の残留性が薬効に大きく寄与していることが示唆された。高残留性ステロイド軟膏は *COX-2* の発現を抑制することで自発痛を抑制し、神経終末上の TRPA1 の応答性を低下させることで接触痛を抑制させる可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にあります。

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, ³Div Physiol, Nihon Univ Sch Dent, ⁴Daiichi Sankyo Healthcare Co Ltd

Oral mucositis is the most common oral disease and is frequently treated with steroid ointments. The analgesic mechanism of steroids in oral ulcers has not been studied in detail. In this study, we examined the effects of triamcinolone acetonide (Tmc) administered with a long-lasting ointment on oral ulcer-induced pain in conscious rats. Based on evaluations of physical properties and retention effect, we selected TRAFUL ointment as a long-lasting base. In oral ulcer model rats, 2 coats of TRAFUL with Tmc suppressed inflammatory cell infiltration and decreased prostaglandin E2 levels in the ulcer and inhibited spontaneous nociceptive behavior and mechanical allodynia. This treatment downregulated *COX-2* and *TNF- α* mRNA expressions and upregulated glucocorticoid receptor target genes. In a shorter residual ointment with Tmc, the effect was low or not. Ca²⁺ imaging in dissociated trigeminal ganglion neurons showed that long-term preincubation with Tmc inhibited the mechanically activated neuronal response. These results suggest that the representative steroid Tmc suppresses oral ulcer-induced spontaneous pain by general genomic actions following glucocorticoid receptor activation and mechanical allodynia by inhibiting mechanical sensitivity in peripheral nerves. Ointments with a long residual period in the oral mucosa are needed to sufficiently elicit the anti-inflammatory and analgesic effects.

Conflict of Interest: The authors have conflict of interests.

1-P2-PM11 象牙芽細胞における Gs タンパク質共役型受容体の発現と三叉神経節細胞—象牙芽細胞間の細胞間連絡

○齋藤 菜月¹, 木村 麻記², 黄地 健仁², 澁川 義幸², 一戸 達也¹

¹東歯大 麻酔, ²東歯大 生理

象牙芽細胞は多量の細胞内 cAMP の存在が報告されているが、象牙芽細胞機能における cAMP の役割は不明である。また、歯髄炎症反応は神経終末から神経ペプチド放出（軸索反射）を生じると信じられているが、根拠は希薄である。本研究では象牙芽細胞の細胞内 cAMP シグナルおよび三叉神経節細胞から象牙芽細胞への細胞間連絡を細胞内 cAMP レベル記録により検討した。象牙芽細胞と三叉神経節細胞は新生仔ラットから急性単離することで得た。象牙芽細胞に免疫蛍光染色を行った。象牙芽細胞に cAMP sensor を加え、細胞内 cAMP レベルを測定した。Ca²⁺指示薬を負荷した三叉神経節細胞と cAMP sensor を加えた象牙芽細胞を共培養した。三叉神経節細胞に微小ガラス管を用いて機械刺激を行い、その機械刺激によって生じる象牙芽細胞の細胞内 cAMP レベル変化を記録した。象牙芽細胞は抗 Gs タンパク質共役型受容体抗体に陽性を示した。象牙芽細胞へのアデニル酸シクラーゼ作動薬の投与で細胞内 cAMP レベルは濃度依存性に増加した。その増加は反復投与により減少した。Gs タンパク質共役型受容体であるカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) 受容体、パラトルモン受容体のアゴニスト投与で細胞内 cAMP レベルは増加した。これらの増加はそれぞれの受容体の選択的アンタゴニスト、アデニル酸シクラーゼ阻害薬の投与で有意に抑制された。三叉神経節細胞への機械刺激は周囲の象牙芽細胞の細胞内 cAMP レベルを増加した。象牙芽細胞に Gs タンパク質共役型受容体が発現しており、アデニル酸シクラーゼの活性化が細胞内 cAMP レベルを増加することが示された。CGRP 受容体、パラトルモン受容体の活性化はアデニル酸シクラーゼを活性化し、細胞内 cAMP レベルを増加すると示唆された。三叉神経節細胞から象牙芽細胞への細胞間連絡の存在が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Intercellular communication between trigeminal ganglion neurons and odontoblasts

○Saito N¹, Kimura M², Ouchi T², Shibukawa Y², Ichinohe T¹

¹Dept Dent Anesthesiol Tokyo Dent Coll, ²Dept Physiol Tokyo Dent Coll

Recent studies have reported that large amounts of intracellular cAMP present in odontoblasts. However, the functional role of cAMP in odontoblast has remained to be clarified. In addition, a theory is widely believed that the inflammatory response in the dental pulp results in neuropeptide release from nerve endings. In this study, we examined intracellular cAMP signaling in odontoblasts, and interaction between trigeminal ganglion neuron and odontoblasts by recording intracellular cAMP level. Intracellular cAMP level was measured by mNeonGreen-based cAMP sensor. The application of adenylyl cyclase activator increased intracellular cAMP level, showing concentration dependent. The increasing showed desensitizing effects. Application of a CGRP receptor agonist, and a PTH receptor agonist, increased intracellular cAMP level in odontoblasts. The increases were significantly inhibited by application of each selective receptor antagonist or an adenylyl cyclase inhibitor in odontoblasts. Mechanical stimulation to trigeminal ganglion neurons increases intracellular cAMP level in the peripheral odontoblasts. These results suggested that activation of adenylyl cyclase increased intracellular cAMP level in odontoblasts. We also showed expression of CGRP/PTH receptors in odontoblasts. We thus, indicate that CGRP/PTH receptor activation increased intracellular cAMP level by activation of adenylyl cyclase. Furthermore, cAMP might mediate intercellular communication between trigeminal ganglion neurons and odontoblasts.

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

1-P2-PM12 冬眠期の血清による末梢血単核球と脂肪由来幹細胞の骨芽細胞・骨細胞への分化について

○Nasoori Alireza^{1,2}

¹北大 院獣医, ²北大 院歯

Hibernating phase serum effects on differentiation of PBMCs, and ADSCs to osteoclasts and osteoblasts/osteocytes *in vitro*

○Nasoori A^{1,2}

¹Grad Sch Vet Med Hokkaido Univ, ²Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Bears do not suffer from osteoporosis during hibernation which is associated with long-term inactivity, lack of food intake, and cold exposure. The effects of hibernating bear serum on cells to preserve bone mass have not been investigated yet.

Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and adipose derived stromal cells (ADSCs) collected from 3 bears were separately cultured with 10 percent serum of active (4 bears for PBMCs and 7 bears for ADSCs culture) and 10 percent serum of hibernating bears (4 bears for PBMCs and 7 bears for ADSCs culture). Osteoclastogenic differentiation was induced by treatment of PBMCs with MCSF and RANKL for 11 days. For osteogenic differentiation of ADSCs, the cells were cultured in osteogenic medium for 34 days. PBMCs and ADSCs were incubated at 37 degree Celsius with 5 percent CO₂. The effect of serum type was assessed by microscopic images and staining techniques.

PBMCs that were cultured with the active bear serum containing medium (ABSM) differentiated to multinucleated osteoclasts, and were positive for TRAP stain. However, cells supplemented with hibernating bear serum containing medium (HBSM) failed to form OCs, and showed significantly lower TRAP stain (p less than 0.001). On the other hand, osteogenic differentiation of ADSCs was similar between ABSM and HBSM (p more than 0.05) in 3 intervals within 34 days.

It was revealed that osteoclastogenesis of PBMCs is hindered by HBSM, but osteogenic differentiation is ongoing similarly with both ABSM and HBSM implying underlying mechanisms for bone maintenance during hibernation in bears. In addition, this study for the first time showed the formation of bears osteoclasts *in vitro* and elucidated the effects of bears serum on cell culture *in vitro*.

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

1-P2-PM13 *Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS の慢性投与下における心疾患発症メカニズムの解明

○松尾 一郎¹, 吹田 憲治², 早川 佳男³, 伊藤 愛子⁴, 石川美沙緒⁵, 清本 賢一¹,
角田 通則¹, 大貫 芳樹², 五味 一博¹, 奥村 敏²

¹鶴大 歯 歯周, 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濃度と同等の *Porphyromonas gingivalis* 由来 Lipopolysaccharide (PG-LPS) 歯周病マウスモデルを作成し「PG-LPS の慢性・持続的刺激は心筋 TLR4 受容体シグナルを介した心機能低下 (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) PGLPS (0.8 mg/kg/day : i. p.) 投与群 (LPS 群), 3) TLR4 シグナル阻害薬 (TAK-242) (1 mg/kg/day:i. p.) 投与群 (TAK 群), 4) LPS と TAK の併用投与群 (LPS + TAK 群) を作成した。投与開始から 28 日後にイソフルレンによる吸入麻酔下で心エコーを用いて心機能測定を行った。実験終了後に心臓を摘出し心筋線維化領域, アポトーシス陽性細胞率の組織学的評価, ウェスタンブロッティング法にて分子生物学的評価を行った。【結果】 1) Control 群に比較し LPS 投与群での心機能は有意に低値を示したが, TAK を併用した群での心機能の低下は有意に抑制された。2) TLR4 受容体の発現量は各群間に有意な差は無かった。しかしながらその下流のシグナルに存在する RIP3・NOX4 の発現量は LPS 群では有意に増加したが LPS + TAK 群ではそれらの増加は有意に抑制された。3) 心筋線維化領域 (Masson-trichrome 染色), 線維化マーカーである α -SMA は LPS 群では有意に増加したが, LPS + TAK 群ではそれらの増加は有意に抑制された。4) 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 BCL-2 は LPS 群では有意に減少したが LPS + TAK 群ではそれらの減少は有意に抑制された。【結論】 PG-LPS の投与による心機能障害は TLR4 シグナル阻害薬 (TAK-242) の投与により保護された。以上の結果は歯周病が TLR4 シグナルを介した心疾患発症を誘発する可能性を示唆している。【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Chronic *Porphyromonas gingivalis*-LPS plays an important role for the development of cardiac dysfunction via activation of Toll like receptor 4 signaling

○Matsuo I¹, Suita K², Hayakawa Y³, Ito A⁴, Ishikawa M⁵, Kiyomoto K¹, Tsunoda M¹,
Ohnuki Y², Gomi K¹, Okumura S²

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

The association between periodontitis and cardiovascular disease (CVD) has been established, and periodontitis is generally accepted as a risk factor. However the detail mechanism of periodontal disease-mediated CVD is not unclear. Lipopolysaccharide (LPS) is well known to activate Toll-like receptor 4 (TLR4) signaling and induce cardiac dysfunctions. The aim of the present study was to investigate the effects of LPS derived from *Porphyromonas gingivalis* (PG-LPS) at a dose equivalent to the circulating levels in periodontitis patients on cardiac function in mice with or without an inhibitor of TLR4 signaling (TAK-242) for 4 weeks. Mice were divided into 4 groups: 1) Control 2) PG-LPS-treated group (0.8 mg/kg/day), 3) TAK-242-treated group (0.1 mg/kg/day i. p.), and 4) PG LPS + TAK-treated groups. We first examined cardiac function by echocardiography and found that cardiac function was significantly decreased by the treatment of PG-LPS, but TAK-242 protected the dysfunction. Cardiac fibrosis (Masson-trichrome staining) and myocyte apoptosis (TUNEL staining) were significantly increased by the treatment of PG-LPS, but TAK-242 blocked these changes. These data suggest that chronic PG-LPS infusion might play an important role for the development of cardiac dysfunction via activation of TLR4 signaling.

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

1-P2-PM14 咬合異常により惹起された慢性交感神経刺激状態による心機能障害に対する抗ヘルペス薬（ビダラビン）の予防効果

○早川 佳男¹, 大貫 芳樹², 吹田 憲治², 石川美紗緒³, 伊藤 愛子⁴, 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

[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「慢性交感神経刺激状態によ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日後に心機能評価を行い、14日後に心臓を摘出し、生理学、組織学、分子生物学的手法を用いて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]心機能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($P<0.05$)。心臓線維化領域、アポトーシス陽性心筋細胞、酸化ストレス陽性心筋細胞の割合は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($P<0.05$)。発現タンパクの解析により線維化、アポトーシス、酸化ストレス、Ca²⁺取込みに関わる分子が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]ビダラビンは咬合異常に起因する心機能障害の有用な治療薬になる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

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

We recently reported a positive relationship between occlusal disharmony and cardiovascular disease via activation of beta adrenergic signaling in mice. Furthermore, inhibition of type 5 adenylyl cyclase (AC5), a major cardiac subtype in adults, protects the heart against oxidative stress. Therefore, we examined the role of AC5 in the development of occlusal-disharmony-induced cardiovascular disease in bite-opening (BO) mice, prepared by cementing a suitable appliance onto the mandibular incisor. We first examined the effects of BO treatment on cardiac function in mice treated or not treated for 2 weeks with vidarabine, which we previously identified as an inhibitor of cardiac AC. Cardiac function was significantly decreased in the BO group compared to the control group, but vidarabine ameliorated the dysfunction. Cardiac fibrosis, myocyte apoptosis and myocyte oxidative DNA damage were significantly increased in the BO group, but vidarabine blocked these changes. The BO-induced cardiac dysfunction was associated with increased phospholamban phosphorylation at threonine-17 and serine-16, as well as increased oxidative stress generated via the CaMKII/RIP3/NOX4 signaling pathway in a cAMP-dependent mechanism. These data suggest that AC5 inhibition with vidarabine might be a new therapeutic approach for the treatment of cardiovascular disease associated with occlusal disharmony.

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

1-P2-PM15 マウス唾液腺 AQP5 発現に及ぼす高脂肪食および低タンパク質食摂取の影響

○平田 愛佳^{1,2}, 姚 陳娟³, 向井 理恵⁴, 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, ⁴徳大院社会産業理工 食料科学

【目的】唾液には様々な生理作用があり、唾液分泌の低下は口腔乾燥症の原因となる。口腔乾燥症を発症することで虫歯や歯周病等の発症や増悪を招き、糖尿病や認知症の発症・悪化にも影響する。高齢者に多くみられるが、近年は若い女性での発症が増加傾向にあり、極端な食事制限等の影響が考えられる。本研究ではマウス唾液腺 AQP5 発現に及ぼす栄養状態の影響について、高脂肪食および低タンパク質食を与えたマウスを用いて検討した。

【方法】実験には C57BL/6N マウス 7 週齢雄を用いた。まず、AIN-93M を与えた普通食 (C) 群および精製ラード 30% で改変した餌を与えた高脂肪食 (HF) 群の 2 群から 64 日目に唾液腺 (耳下腺, 顎下腺) を摘出した。次に AIN-93M を与えた普通食 (C) 群およびタンパク質 5% 含有飼料を与えた低タンパク質食 (LP) 群の 2 群から 8 日目と 21 日目に唾液腺を摘出した。各唾液腺における水チャネル AQP5 発現についてウエスタンブロット (WB) 分析および免疫組織染色 (IHC) により解析した。

【結果・考察】AQP5 タンパク質発現レベルは高脂肪食負荷実験において、顎下腺では大きな影響は見られなかったが、耳下腺では C 群に比べて HF 群で有意に低下した。IHC においても WB 同様に耳下腺 AQP5 発現が減少傾向にあることが示唆された。一方、低タンパク質食負荷実験においては、摂取 8 日目および 21 日目ともに LP 群で僅かな減少傾向が示唆され、特に顎下腺においては摂取期間の延長に伴い減少傾向がみられた。IHC の結果においても WB と同様の傾向であったが、21 日目の顎下腺では、8 日目と比較して AQP5 の唾液腺腺房細胞管腔膜での局在に低下傾向がみられた。今回の結果から、食事摂取による栄養状態の変化が唾液腺機能に影響を与える可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effect of high-fat or low-protein diets on AQP5 expression in mouse salivary gland

○Hirata A^{1,2}, Yao C³, Mukai R⁴, Hasegawa T³, Yoshimura H³, Akamatsu T²

¹Div Biores Sci Grad Sch Sci Technol Innov, Tokushima Univ, ²Field Biomol Func Technol Industr Soc Sci, Tokushima Univ, ³Dept Mol Oral Physiol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci, ⁴Field Food Sci Technol Industr Soc Sci, Tokushima Univ

[Introduction] Saliva has various physiological effects, and decreased salivation causes xerostomia, which affects diabetes and dementia. It is recently increasing in not only the elderly, but also the young women, suggesting the influences of extreme dieting. In this study, we investigated the effect of nutritional status on AQP5 expression in mouse salivary glands.

[Method] 7-week-old male C57BL/6N mice were used. Parotid gland (PG) and submandibular gland (SMG) were removed from the normal diet (C) group and the high-fat diet (HF) group at the 64th day. Similarly, they were removed from C group and the low protein diet (LP) group at the 8th and 21st days. AQP5 expression in each salivary gland was analyzed by Western blotting (WB) and immunohistochemistry (IHC).

[Result/Discussion] In the high-fat diet experiment, the AQP5 expression tended to decrease significantly in PG of the HF group by means of both WB and IHC. In the low-protein diet experiment, there seemed to be a slight decrease of AQP5 expression in the LP group. In SMG, WB and IHC showed a decrease in AQP5 expression in the LP21 group compared to the LP8 group. These results suggest that nutritional status due to dietary intake may affect salivary gland function.

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

1-P2-PM16 非ステロイド性抗炎症薬長期投与によるマウス甘味・うま味感受性の抑制

○平山 彩夏^{1,2}, 岩田 周介¹, 尾池 麻未¹, 渡邊 雄¹, 川端 由子¹, 實松 敬介¹,
高井 信吾¹, 高橋 一郎², 重村 憲徳¹

¹九大 院歯 口腔機能解析, ²九大 院歯 矯正, ³九大 院歯 矯正, ⁴九大 院歯 OBT
セ, ⁵九大 院歯 五感デバイスセ

非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)は, アラキドン酸経路の Cyclooxygenase(COX)を阻害し, 下流分子で炎症・疼痛の原因となる Prostaglandin (PG)類の合成を抑えることで, 解熱・鎮痛効果を発揮する. この NSAIDs の服用に際して, 味覚障害が副作用として報告されている. しかし, 発症の分子機構については明らかになっておらず, どの味質にどのような影響を与えるのか, その病態の詳細は分かっていない. そこで本研究では, マウスを用いて NSAIDs 長期投与による, 味覚感受性への影響について検討した. RT-PCR の結果, COX-1, COX-2 および PGE2 合成酵素の mRNA が舌味蕾に発現していることが示された. また, 免疫組織化学的解析において, マウス味蕾の一部の味細胞に, 限局した COX-2 の発現を認めた. 次に, C57BL/6J マウスに 30 日間, 代表的な NSAID であるジクロフェナクナトリウムの長期投与を行ない, 短時間リック解析と鼓索神経応答解析を行った. その結果, コントロール群と比較して, ジクロフェナクナトリウム長期投与群において, 短時間リック試験・鼓索神経応答解析の両方で甘味およびうま味に対する応答が特異的に抑制されることが示された. その他の基本味ではこのような変化は見られなかった. 以上の結果から, NSAIDs は味細胞に作用し, アラキドン酸経路を阻害することで, 甘味およびうま味応答を特異的に抑制している可能性が示唆された. 今後の展望として, 免疫組織化学的解析, qPCR を用いて, ジクロフェナクナトリウム長期投与による味細胞の形態的変化・量的変化の解析を行い, NSAID 誘発味覚障害の分子機構を明らかにしたいと考えている.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Chronic administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs suppresses sweet and umami taste responses in mice

○Hirayama A^{1,2}, Iwata S¹, Oike A¹, Watanabe Y¹, Kawabata Y¹, Sanematsu K¹, Takai S¹,
Takahashi I², Shigemura N¹

¹Sect Oral Neurosci, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ⁴OBT Res Cent Fac Dent Kyushu Univ Grad Sch Dent, ⁵Res Devel Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Drug-induced taste disorder is serious problem in an aging society. In this study, we focused on non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) commonly used to manage the pain and inflammation, which work by inhibiting the activity of cyclooxygenase enzymes (COX-1 or COX-2) generating prostaglandins (PGs). RT-PCR analysis revealed the expression of COX-1, COX-2 and Prostaglandin E2 synthetase 2 (PGE2) mRNA in a subset of mouse taste bud cells. Next, we investigated the effects of long-term administration of diclofenac Na on behavioral and taste nerve responses in mice. Diclofenac Na suppressed both behavioral and nerve responses to sweet and umami taste stimuli, but not to other basic tastants such as bitter, salty and sour. These results suggest that diclofenac Na directly act on sweet and umami taste cells via COXs, which may induce suppression of sweet and umami taste sensitivities.

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

1-P2-PM17 気管平滑筋におけるメラトニン受容体 MT₂の発現と細胞内シグナリング機構

○佐々木晴香, 水田健太郎

東北大 院歯 歯科口腔麻酔

【目的】気管支喘息の臨床症状は概日リズムの影響を受ける。概日リズム形成を担うメラトニンの夜間血中濃度は喘息患者で有意に高いが、メラトニンと気管支喘息の相関性は不明である。喘息の主病態である気管支平滑筋の収縮は一般に G_q または G_i 蛋白共役型受容体を介して生じる。メラトニン受容体群 (MT₁, MT₂) も G_q, G_i 蛋白共役型受容体であり、気管平滑筋収縮に寄与している可能性が高い。そこで本研究では、気管平滑筋上でのメラトニン受容体の発現、及びメラトニンによる気管支収縮機構の細胞内機序について検討した。

【方法】(1) ヒト気管平滑筋組織・細胞 (HASM) におけるメラトニン受容体の発現を RT-PCR 法及び免疫組織化学染色により検索した。(2) HASM における cAMP 産生作用がメラトニン投与により抑制されるか、また抑制作用が G_i 蛋白阻害剤 (百日咳毒素) の前投与、メラトニン受容体の knockdown により阻害されるかを ELISA 法で評価した。(3) アセチルコリンによる細胞内 Ca²⁺ 濃度 ([Ca²⁺]_i) 上昇作用がメラトニンにより増強されるか、またその作用が百日咳毒素により抑制されるかを Fluo-4 負荷 HASM で評価した。

【結果】(1) ヒト気管平滑筋組織・細胞における MT₂ の発現が確認された。(2) cAMP 産生作用はメラトニン投与により有意に抑制された。またこの抑制作用は百日咳毒素の前投与、及び MT₂ の knockdown により有意に阻害された。(3) アセチルコリンによる [Ca²⁺]_i 上昇作用はメラトニン投与により有意に増強された。またこの増強作用は百日咳毒素により有意に抑制された。

【考察】ヒト気管平滑筋における MT₂ 受容体の発現が確認された。メラトニンは G_i 蛋白共役型 MT₂ 受容体を刺激し、cAMP 産生抑制及び [Ca²⁺]_i 上昇増強シグナルを介して気管平滑筋収縮に寄与する可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Expression and coupling of melatonin MT₂ receptor to cyclic AMP and calcium signaling pathways in human airway smooth muscle

○Sasaki H, Mizuta K

Dent Oral Anesthesiol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Introduction: Nocturnal asthma is characterized by heightened bronchial reactivity at night, and plasma concentrations of melatonin are higher in patients with nocturnal asthma. Melatonin activates its specific melatonin receptors (MT₁ and MT₂), which couples to G_q and/or G_i protein. Airway smooth muscle tone is regulated by G protein-coupled receptors which control cyclic AMP (cAMP) and intracellular calcium ([Ca²⁺]_i). We questioned whether melatonin receptors are expressed on human airway smooth muscle (HASM), and whether they exhibit regulate cAMP and [Ca²⁺]_i.

Methods: (1) Expression of MT₁ and MT₂ receptors were evaluated in native and cultured HASM by RT-PCR and immunohistochemistry. (2) To characterize the regulation of cAMP synthesis by melatonin, HASM cells were pretreated with melatonin before forskolin-induced cAMP measurements. (3) To evaluate whether melatonin potentiates acetylcholine (ACh)-stimulated [Ca²⁺]_i, HASM was pretreated with melatonin prior to ACh-stimulation.

Results: (1) We detected the expression of MT₂ in HASM. (2) Melatonin inhibited forskolin-stimulated cAMP accumulation, which was reversed by the pretreatment with G_i protein inhibitor pertussis toxin (PTX) or the transduction with MTNR1B-specific siRNA. (3) Melatonin potentiated ACh-stimulated initial [Ca²⁺]_i increase, which was reversed by PTX.

Conclusion: G_i-coupled melatonin MT₂ receptor expressed on HASM could potentiate airway hyperresponsiveness, which could worsen nocturnal asthma symptoms.

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

1-P2-PM18 ラット三叉神経節細胞の Gs タンパク質共役型受容体活性化による細胞内 cAMP レベルの動態解析

○國奥 有希¹, 木村 麻記², 黄地 健仁², 澁川 義幸², 福田 謙一¹

¹東歯大 口腔健康科学, ²東歯大 生理

口腔顔面領域の疼痛に関与する一次侵害受容ニューロンの細胞体は三叉神経節に存在する。近年疼痛の原因の一つとして末梢神経における疼痛関連受容体の量的・質的変化が報告されている。疼痛関連細胞膜受容体である G タンパク質共役型受容体にはアデニル酸シクラーゼと共役する Gs タンパク質共役型受容体と Gi タンパク質共役型受容体があり、受容体活性を介して cAMP 生成の増減をもたらす。我々は以前ラット三叉神経節細胞の Gi タンパク質共役型受容体活性による細胞内 Ca²⁺シグナルに細胞内 cAMP が関与している可能性を報告した。しかし三叉神経節細胞における細胞膜受容体活性化を介した細胞内 cAMP シグナルの詳細な機序は未だ解明されておらず、Gs タンパク質共役型受容体発現の知見も限られている。そこで本研究はラット三叉神経節ニューロンの細胞膜 Gs タンパク質共役型受容体活性化から細胞内 cAMP レベルの動態を検討することを目的とした。Wistar ラット (7 日齢) より急性単離した三叉神経節を初代培養し、mNeonGreen cAMP sensor を用いて細胞内 cAMP レベルを測定した。アデニル酸シクラーゼ活性薬である forskolin (FSK; 1 μM) を単独投与すると細胞内 cAMP レベルは一過性に増加した。Phosphodiesterase (PDE) 阻害薬である IBMX (50 μM) を同時投与すると細胞内 cAMP レベルは FSK 単独投与時よりも有意に増加した。アデニル酸シクラーゼ阻害薬である SQ22536 (0.1 μM) と FSK (1 μM) を同時投与すると FSK によって誘発される細胞内 cAMP レベル増加は有意に抑制された。Gs タンパク質共役型受容体である β₂受容体のアゴニスト isoproterenol (10 nM) を投与すると細胞内 cAMP 濃度は増加し、その増加は SQ22536 の投与により有意に抑制された。これらの結果はラット三叉神経節細胞にアデニル酸シクラーゼを介した細胞内 cAMP シグナルが存在していることを示していた。また Gs タンパク質共役型受容体である β₂受容体の発現が示された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Intracellular cAMP signaling pathway via Gs protein-coupled receptors activation in rat trigeminal ganglion cells

○Kunioku Y¹, Kimura M², Ouchi T², Shibukawa Y², Fukuda K¹

¹Div Spec Needs Dent and Oracial Pain Dept Oral Health Clin Sci, Tokyo Dent Coll, ²Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

The detailed intracellular cAMP signaling pathway in trigeminal ganglion (TG) neurons and the knowledge of Gs protein-coupled receptor expression has remained to be clarified. The present study investigated the intracellular cAMP signaling pathway via the activation of plasma membrane Gs protein-coupled receptors in TG neurons. Intracellular cAMP levels in TG cells were measured by an mNeonGreen-based cAMP sensor. When we applied forskolin (FSK; 1 μM) to the neurons, which is an activator for adenylyl cyclase, the intracellular cAMP concentration level increased transiently. FSK induced-cAMP increases were augmented by an application of phosphodiesterase (PDE) inhibitor, IBMX (50 μM), while the increases were significantly suppressed by application of an adenylyl cyclase inhibitor, SQ22536 (0.1 μM). Application of isoproterenol (10 nM), an agonist of the Gs protein-coupled beta-2 adrenergic receptors, increased intracellular cAMP concentration, while the increase was significantly inhibited by an application of SQ22536. These results suggested that rat trigeminal ganglion neurons expressed Gs protein-coupled beta-2 adrenergic receptors and their activation induced cAMP level increases.

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

1-P2-PM19 COVID-19 と口腔との関連 – 歯周病原菌による ACE2 と炎症性サイトカインの発現誘導 –

○高橋 佑和^{1,2}, 横江 将^{2,3}, 渡邊 典久^{2,3}, 神尾 宜昌², 今井 健一²

¹日大 歯 補綴 I, ²日大 歯 細菌, ³日大 歯 保存 III

【目的】近年、歯周病が誤嚥性肺炎や昨年世界の死因の第3位となった慢性閉塞性肺疾患（COPD）の発症及び増悪原因となることが報告されている。最近、肺炎や COPD 患者のみならず COVID-19 患者の痰や気管支洗浄液からも歯周病原菌が検出されること、また歯周病と COVID-19 重症化との関連性が指摘されるなど、口腔内環境の悪化は、COVID-19 の進展に少なからず影響を及ぼしていると考えられる。そこで今回、誤嚥した口腔細菌が下気道に作用し SARS-CoV2 のレセプター：ACE2 と COVID-19 重症化に関わるサイトカインストームの中心をなす炎症性サイトカインを誘導するのではないかと考え研究を行った。【方法と結果】Fusobacterium nucleatum (F. n.) の培養上清で肺胞上皮細胞を刺激した結果、遺伝子及び蛋白レベルにおいて ACE2 の発現が強く認められた。また免疫染色においても多くの ACE2 の発現を認めた。さらに、F. n. は IL-8 と IL-6 の産生を誘導し、その作用は誤嚥後、菌が最初に作用する咽頭及び気管の上皮細胞のみならず、プライマリーの肺胞上皮細胞においても認められた。また、F. n. の代謝産物：酪酸が ACE2 と IL-8・IL-6 を誘導することを見出した。さらに、F. n. はマウス肺や血清において、肺炎起因菌よりも数倍以上強く炎症性サイトカインの産生を誘導した。【考察】特に、口腔機能が低下している高齢者では慢性的な唾液の誤嚥が予想されるため、歯周病原菌は、1) ACE2 の発現を介して SARS-CoV2 の感染性を高める、2) 炎症性サイトカインを誘導し下気道の炎症を増強することにより、COVID-19 の重症化に関与する可能性がある。ウイルス性肺炎に加え口腔細菌による肺炎の増悪が考えられ、COVID-19 においても口腔ケアの重要性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Expression of the SARS-CoV-2 receptor ACE2 and proinflammatory cytokines induced by the periodontopathic bacteria in human respiratory epithelial cells

○Takahashi Y^{1,2}, Yokoe S^{2,3}, Watanabe N^{2,3}, Kamio N², Imai K²

¹Dept Complete Denture Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent, ²Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent, ³Dept Periodontol, Nihon Univ Sch Dent

The oral cavity is an important portal for ingress of SARS-CoV-2, being an entryway to the bronchial tubes, alveoli, and the rest of the lower respiratory tract, in which inflammation by viral infection is caused. Periodontitis is also a risk factor for pneumonia and the exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, presumably because of the aspiration of saliva contaminated with periodontopathic bacteria into the lower respiratory tract. Patients with these diseases have increased rates of COVID-19 aggravation and mortality. Because periodontopathic bacteria have been isolated from the bronchoalveolar lavage fluid of patients with COVID-19, periodontitis may be a risk factor for COVID-19 aggravation. However, the molecular links between periodontitis and COVID-19 have not been clarified. We found that the culture supernatant of Fusobacterium nucleatum (CSF) upregulated the SARS-CoV-2 receptor ACE2 in alveolar epithelial cells. In addition, CSF induced IL-6 and IL-8 production by both A549 and primary alveolar epithelial cells. CSF also strongly induced IL-6 and IL-8 expression by bronchial epithelial cells and pharyngeal epithelial cells. These results suggest that when patients with mild COVID-19 frequently aspirate periodontopathic bacteria, SARS-CoV-2 infection is promoted, and inflammation in the lower respiratory tract may become severe in the presence of viral pneumonia.

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

1-P2-PM20 歯周病原細菌感染によるマウスの行動変化の免疫学的解明

○岸川 咲吏¹, 永尾 潤一^{1,2}, 豊永 憲司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 口腔医学セ

歯周病は若年者から高齢者まで幅広い世代に存在する感染症の一つである。歯周病は歯肉の炎症とそれに続く歯槽骨吸収により歯を喪失する最も大きな原因であるが、口腔組織だけでなく、脳や心臓などの他の臓器にも様々な影響を与えることが広く知られている。最近では高齢者の歯周病罹患患者は非罹患患者に比べて認知症リスクが高いことや、認知症患者は認知症発症前に不安や抑うつなどの精神障害を起しやすいたことが明らかになっている。これら精神障害の発症には免疫細胞が関与しているとの報告もあるが、歯周病原細菌感染が若年者の脳に与える神経免疫学的なリスクについてはよく分かっていない。そこで我々は、若年者が長期にわたって歯周病に罹患すると脳に神経免疫学的な変化が起きることで精神障害が誘導され、認知症発症の基盤が形成されるのではないかと仮定した。若年者の脳に対する歯周病原細菌感染のリスクが明らかになれば、新たな予防法の提唱や治療法の開発、さらに QOL の上昇に繋がると期待できる。我々は、歯周病原細菌の一つである *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、若年齢マウスの脳組織に対する *P. gingivalis* 感染の影響と、その影響によるマウスの行動変容に着目して、歯周病菌感染による脳組織への免疫学的影響を明らかにすることを目的とする。本発表では、*P. gingivalis* 感染マウスの行動変化とそれに基づく今後の解析について報告する。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Immunological analysis of behavioral changes after periodontal disease infection in mice

○Kishikawa S¹, Nagao J^{1,2}, Toyonaga K¹, Negoro K¹, Tanaka Y^{1,2}

¹Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, ²Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll

Periodontal disease is the most common cause of tooth loss due to gingival inflammation and subsequent alveolar bone resorption. It is widely known to affect not only oral tissue but also other organs such as the brain and heart. Recently, it has been reported that older people with periodontal disease are at higher risk of dementia than unaffected patients, and people with dementia may develop mental disorders such as anxiety and depression before the onset of dementia. Some immune cells have been reported to be involved in the development of psychiatric disorders. However, the neuroimmunological risk of periodontal disease to the adolescent brain remains unclear. In this study, we developed a mouse model of periodontal disease by infection of periodontal bacteria *Porphyromonas gingivalis*. We focused on the influence of *P. gingivalis* infection on the brain of young mice and the behavioral changes using the mouse model of periodontal disease.

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

1-P2-PM21 *Porphyromonas gingivalis* の線毛成分をコードする遺伝子の多様性分析

○榮 宏太郎^{1,2}, 永野 恵司³, 古橋実結葉⁴, 長谷川義明¹

¹愛院大 歯 微生物, ²愛院大 歯 歯内治療, ³北医療大 歯 微生物, ⁴愛院大 歯 小児歯

グラム陰性嫌気性細菌 *Porphyromonas gingivalis* は、歯周病の発症や進行に強く関連する。本菌は、通常、FimA および Mfa1 と呼ばれる 2 種類の線毛をもつ。両線毛は、主要タンパク質である FimA および Mfa1 に加え、*fimA* および *mfa1* の下流から発現する 4 つの微量成分 (FimB~FimE および Mfa2~Mfa5) により構成される。*fimA* には 5 つの遺伝子型が存在し、遺伝子型と病原性との間に関連性が認められることが報告されている。一方、*mfa1* については、現在 *mfa1*⁵³ および *mfa1*⁷⁰ 型の 2 つの遺伝子型が報告されているが、病原性との関連は明らかにされていない。また、*mfa* クラスターの下流に位置する *ragA* および *ragB* にも多型が存在することが報告されている。そこで本研究では、*P. gingivalis* のゲノム未解読の 12 株と、ゲノムが公開されている 62 株 (計 74 株) の *mfa1*~*mfa5*, *fimA*~*fimE*, および *ragA/ragB* の遺伝子多型について解析した。*mfa1* 遺伝子型は、*mfa1*⁵³ および *mfa1*⁷⁰ 型に分類されたが、*mfa1*⁷⁰ 型は、さらに、2 つのサブタイプ (*mfa1*^{70A} および *mfa1*^{70B} 型) に分類された。また、*mfa2*~*mfa4* にも多型が認められ、それらの遺伝子型は *mfa1* の遺伝子型と一致した。ただし、70 型のサブタイプは認められなかった。一方、*mfa5* は、他の遺伝子型とは独立し、5 つの遺伝子型に分類された。また、*mfa5* がタンデムに存在する株が認められた。*mfa1* 型は、*ragA/ragB* 遺伝子型と相関する傾向がみられたが、*fimA* 型との相関は認められなかった。本研究から、Mfa1 線毛の遺伝子型と病原性との関連の解析には、*mfa1* 型だけではなく、線毛の微量成分や他の遺伝子の多型との関連性について検討する必要があると考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Diversity analysis of genes encoding fimbrial components in *Porphyromonas gingivalis*

○Sakae K^{1,2}, Nagano K³, Furuhashi M⁴, Hasegawa Y¹

¹Div Microbiol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, ²Div Endodont, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, ³Div Microbiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ⁴Div Pediatr Dent, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent

Porphyromonas gingivalis, a gram-negative anaerobic bacterium, is associated with the development of periodontal disease. *P. gingivalis* generally expresses two distinct types of fimbriae, FimA and Mfa1. Although the genetic diversity of *fimA*, encoding the major FimA fimbriin protein, has been characterized, the genes encoding the Mfa1 fimbrial components, including the Mfa1 to Mfa5 proteins, have not been fully studied. We therefore analyzed *mfa1* genotypes in 12 uncharacterized and 62 known strains of *P. gingivalis* published on the web (74 strains in total). The *mfa1* gene has been primarily classified into two genotypes, *mfa1*⁵³ and *mfa1*⁷⁰. However, we found that the *mfa1*⁷⁰ genotype could be further divided into two subtypes (*mfa1*^{70A} and *mfa1*^{70B}). The diversity of *mfa2*, *mfa3*, and *mfa4* was consistent with the *mfa1* genotype, although no subtype in *mfa1*⁷⁰ was observed. The *mfa5* gene was classified into five genotypes independent of the other genotypes. Surprisingly, some strains had two *mfa5* genes in tandem. The *mfa1* genotypes partially correlated with the *ragA* and *ragB* genotypes but not with the *fimA* genotypes. Future studies should focus on the association between the genotypes of accessory proteins and pathogenicity in *P. gingivalis*.

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

1-P2-PM22 肺炎球菌のニューモライシン依存的な鼻粘膜バリア傷害と脳への伝播機構の関連

○高原 悠樹^{1,2}, 住友 倫子¹, 山口 雅也¹, 中田 匡宣³, 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, ³鹿大 院医歯 口腔微生物

細菌性髄膜炎は、主に上気道常在細菌が血行性に血液脳関門を介して髄膜へ伝播することにより発症すると認識されてきた。しかし、鼻咽腔から血流中への細菌伝播を決定づける因子や血液脳関門を破綻させる分子機構は不明である。我々はこれまでに、鼻咽腔に定着した肺炎球菌が嗅覚神経経路を介して非血行性に脳内へ到達する髄膜炎マウスモデルを構築した。本研究では、構築したマウスモデルを用いて、肺炎球菌による鼻粘膜上皮バリアの傷害と細菌の脳伝播機構の関連を検証した。

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、非血行性髄膜炎モデルとした。脳組織ホモジネート中の菌数測定と感染組織の免疫蛍光染色により、鼻粘膜上皮に定着する肺炎球菌が、嗅神経の軸索を介して脳組織へ侵入する現象を認めた。嗅球、大脳、および小脳への肺炎球菌の伝播は、ニューモライシン遺伝子 (*ply*) の欠失により有意に低下したが、*ply* の再導入により野生株と同程度にまで回復した。また、組換えニューモライシンの経鼻投与により、*ply* 遺伝子欠失株は野生株と同程度の脳伝播能を呈した。野生株感染群の鼻腔洗浄液では、非感染群と比較して、細胞間接着分子群の転写を抑制する Snail1 遺伝子の発現上昇と、E-カドヘリンの発現低下を認めたが、*ply* 欠失株感染群では非感染群と同程度であった。

以上の結果から、肺炎球菌のニューモライシンは Snail1 依存的に鼻粘膜バリアを傷害し、嗅神経経路を介した細菌の脳組織伝播に寄与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】利益相反状態にはありません。

Pneumolysin-dependent dysfunction of the nasal epithelial barrier is involved in pneumococcal dissemination to brain tissue

○Takahara Y^{1,2}, Sumitomo T¹, Yamaguchi M¹, Nakata M³, Kawabata S¹

¹Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, ²Dept Fixed Prosthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent, ³Dept Oral Microbiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

Streptococcus pneumoniae is a leading cause of bacterial meningitis and neurological sequelae. Although bacterial meningitis is considered to be caused through bacteremia and the following blood-brain barrier disruption, the molecular mechanisms underlying bacterial dissemination to the central nervous system remain elusive. We previously showed that *S. pneumoniae* can gain access to the brain tissue through a non-hematogenous route without peripheral blood infection. Here, we sought to identify both bacterial and host factors involved in the process. Deletion of the *ply* gene encoding pneumolysin markedly compromised the ability of the organisms to disseminate into brain tissue, whereas the dissemination efficiency of the complemented strain was nearly restored to the level of the wild type. Distinct upregulation of Snail1 and downregulation of E-cadherin were detected in nasal lavage samples obtained from mice infected with the wild type but not mice infected with the Δ *ply* strain. Taken together, our findings indicate that pneumolysin induces Snail1-dependent dysfunction of the nasal epithelial barrier, thus allowing pneumococcal dissemination to brain tissue in a non-hematogenous manner.

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

1-P2-PM23 プロタミンおよび 3-methyl-4-isopropylphenol 共処理による *Enterococcus faecalis* に対する抗菌性

○阿部 優

明大 院理 応用化学 生物化学

歯髄の細菌感染により誘発される根尖性歯周炎は完治が難しく、予後不良の根尖からはグラム陽性通性嫌気性細菌 *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) が頻繁に検出される。現在、根管治療における殺菌剤には主に次亜塩素酸ナトリウムが使用されており、*E. faecalis* に対しても有効性が確認されている。しかし、効果の発現には高濃度かつ長時間の処理を要すると報告されており、細胞毒性の観点から生体に対する安全性が懸念される。そこで本研究では、生体に対してより安全な薬剤の探索を目的として、サケ白子由来の抗菌ペプチドであるプロタミンに着目した。プロタミンは種々の口腔内細菌に対する広い抗菌スペクトルに加え、細胞膜の破壊、細胞膜透過による代謝阻害といった複数の抗菌作用機序を有する。したがって薬剤耐性菌も生み出しにくく、有用な代替剤になり得ると考えた。はじめに、*E. faecalis* に対してプロタミンを単独処理したところ、増殖速度を大幅に低下させたものの、十分な殺菌効果を得られなかった。この原因を調査するため、蛍光標識を施したプロタミンを用いて蛍光顕微鏡による観察を行った。その結果、プロタミンは主に *E. faecalis* の細胞膜表面に局在しており、細胞膜を透過し細胞内部へと侵入できていないことが判明した。そこで細胞膜の破壊を誘発する試薬、3-methyl-4-isopropylphenol (IPMP) とプロタミンを併用処理したところ、*E. faecalis* に対するプロタミンの細胞膜透過率は有意に増加し、それに伴い高い殺菌効果が確認された。本研究の結果は、IPMP による細胞膜損傷がプロタミンの細胞膜透過を促進し、抗菌性を増大させることを示した。これは根管治療における殺菌剤の選択域を広げ得る可能性を含む。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Antibacterial activity against *Enterococcus faecalis* by co-treatment with protamine and 3-methyl-4-isopropylphenol

○Abe Y

Dept Biochem, Meiji Univ Grad Sch Appl Chem

Enterococcus faecalis (*E. faecalis*) has frequently been detected in poorly treated apical periodontal lesions. In recent years, sodium hypochlorite has been used as the first choice for its treatment, and its efficacy against *E. faecalis* has been confirmed. However, it has been reported that the sterilization required high concentration and long treatment time. Therefore, there remains a concern about the safety of living body in terms of its cytotoxicity. In this study, we evaluated the antimicrobial activity of protamine, an antimicrobial peptide derived from salmon milt, in order to propose a new therapeutic alternative that is safer for the living body. As a result, protamine only reduced the growth rate, and had poor bactericidal activity. To investigate the cause, we conducted fluorescence microscopy using protamine labeled with fluorescent dyes and found that protamine was mainly localized to the membrane surface of *E. faecalis* with very low permeability into the membrane. When 3-methyl-4-isopropylphenol (IPMP), an antimicrobial agent that causes membrane disruption, was co-treated with protamine, the membrane permeability of protamine increased significantly, and the complete sterilization of *E. faecalis* was observed. Our data suggest that co-treatment of protamine and IPMP can be a novel therapeutic alternative.

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

1-P2-PM24 *Lactococcus lactis* が産生する Nisin A の *Clostridioides difficile* への効果について

○井手 規暁^{1,3}, 松尾 美樹², Le Mi Nguyen Tra², 西 裕美³, 小松澤 均²

¹広大院医歯 歯科医学教育, ²広大院医歯 細菌, ³広大病院 口総診

抄録目的: *Clostridioides difficile* は腸内細菌の一つであり, 世界中の病院における抗菌薬関連下痢症を惹起することで知られている. *C. difficile* 感染症の治療法として, バンコマイシンとメトロニダゾールなど抗菌薬が用いられる. しかし, 本菌は芽胞形成菌であること, さらに薬剤耐性菌の出現が近年問題となっており, 本菌による感染症対策は重要な課題である. 本研究では, 抗菌薬にかわる治療法として, 抗菌性ペプチドであるナイシン A の効果について検証した. 材料と方法: 方法は標準株である *C. difficile* JCM5243 と臨床分離株 10 株を用いて, ナイシン A 産生 *L. lactis* を用いた Direct 法と最小発育阻止濃度 (MIC) 法を用いたナイシンの感受性を検証した. さらに MIC 法では *C. difficile* の治療薬であるメトロニダゾールをはじめとした各種抗菌薬に対する感受性も検証した. さらにナイシン A による *C. difficile* の芽胞に対する効果も検証した. 結果と結論: 感受性試験の結果, ナイシン A は *C. difficile* に対し抗菌効果を持つことが明らかになった. しかし, ナイシン A に対する感受性は標準株で 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 臨床分離株で 2~4096 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とその差が 2000 倍以上と多様性を認めた. ナイシン A は発芽した *C. difficile* に効果があることも確認した. 本研究からナイシンは *C. difficile* に対して有効であることが明らかになった. しかし一部の *C. difficile* ではナイシン A に対する感受性が低かったことから, ナイシン A に対する耐性因子が存在することも示唆された. 【会員外共同研究者】: 河口 浩之 (広島大学・歯科医学教育学講座)

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Effect of nisin A produced by *Lactococcus lactis* to *Clostridioides difficile* strains

○Ide N^{1,3}, Kawada Matsuo M², Le M², Nishi H³, Komatsuzawa H²

¹Dept Dent Edu, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci, ²Dept Bacteriol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci, ³Dept Adv Gen Dent, Hiroshima Univ Hosp

Purpose: *Clostridioides difficile* is an intestinal bacterium and is known to cause diarrhea in hospitals. Antibacterial agents such as vancomycin and metronidazole are used to treat *C. difficile* infectious disease. *C. difficile* is a spore-forming bacterium so that the emergence of drug-resistant strains has become a problem in recent years. It is expected to develop alternative antibacterial agents for the prevention of the infection by this bacterium. In this study, we examined the effect of nisin A, an antimicrobial peptide produced by *Lactococcus lactis*, as an alternative agent. Methods: We performed the direct method and the minimum inhibitory concentration method to determine the susceptibility of nisin A against 1 laboratory strains and 10 clinical isolates of *C. difficile*. The inhibitory effect of nisin A on *C. difficile* spore was also examined. Results & Conclusion: Susceptibility test revealed that nisin A had an antibacterial effect against all *C. difficile* strains. We also found that nisin A showed the antibacterial activity against germinated *C. difficile*. These results indicate that nisin A is a possible candidate for clinical use against *C. difficile* infection. Co-authors not in JAOB: Hiroyuki Kawaguchi

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

1-P2-PM25 過酸化水素処理によって生じる *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* persister の形成メカニズムとその排除

○中村 鷹平^{1,2}, 山崎 亮太¹, 有吉 渉¹, 吉岡 香絵¹

¹九歯大 感染分子生物, ²九歯大 口腔機能発達

細菌による感染はいまだ世界的な問題となっており, 抗生物質の普及にもかかわらず多くの疾病が未だ治療を困難としている. その原因として, 一部の細菌が生存に特化した”persister”という状態となっていることが明らかになってきた. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* は, 代表的な歯周病原性細菌の1つであり, これが persister を形成するために歯周病が持続化しているのではないかと考える. したがって, *A. actinomycetemcomitans* の薬剤治療による persister の形成と, その persister 化のメカニズムを明らかにし, 更にその排除法を確立することで, 薬剤治療による歯科疾患の根治と予防を図ることができると考えられる. *A. actinomycetemcomitans* への MIC 試験, 4xMIC 過酸化水素による殺菌試験, persister 形成細菌に対するゲンタマイシンとマイトマイシン C による殺菌試験を行なった. *A. actinomycetemcomitans* に対する 24 時間 4xMIC 過酸化水素の殺菌試験により, 3 時間以降は 0.5% の細菌が生存し続けていることが確認された. この結果から過酸化水素に対する persister を形成していると考えられる. また, persister 形成細菌に対する 10xMIC ゲンタマイシンと 10xMIC マイトマイシン C による殺菌試験より, 3 時間の処理で完全に殺菌されることが分かった. 今回形成した persister は過酸化水素に抵抗性のある状態になっているが, ゲンタマイシンに感受性を示した. そのため, これまで報告されている persister とは異なる機序での形成が示唆される. ゆえに, 過酸化水素を分解する酵素であるカタラーゼを産生する遺伝子や, ヒドロキシラジカル分解に関連する遺伝子の発現量を調べる必要がある. *A. actinomycetemcomitans* は 4xMIC 濃度の過酸化水素処理により persister を形成する. 形成された persister はゲンタマイシンとマイトマイシン C によってそれぞれ殺菌される.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Elucidation of the persister formation mechanism of *A. actinomycetemcomitans*

○Nakamura Y^{1,2}, Yamasaki R¹, Ariyoshi W¹, Yoshioka Y¹

¹Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ, ²Div Pediatr Dent, Kyushu Dent Univ

It has become clear that some bacteria are in a state of ”persister” specialized for survival as a cause of difficulty in treating bacteria with antibiotics. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* is thought to persist periodontal disease by forming persister. Therefore, elucidation of the persister formation mechanisms during drug treatment leads to cure and prevent dental diseases. For *A. actinomycetemcomitans*, MIC test, sterilization test, and pre-formed persister sterilization test were performed. The results of the sterilization test using hydrogen peroxide showed that 0.5% of the bacteria survived after 3 hours and then remained same survival ratio for 24 hours. Therefore, *A. actinomycetemcomitans* form persister by hydrogen peroxide treatment. Treatment with 10xMIC gentamicin and 10xMIC mitomycin C for 3 hours completely killed persister-forming bacteria. The persister in this study became resistant to hydrogen peroxide, but was sensitive to gentamicin. Therefore, it is suggested that the formation of the persister is a different mechanism from that reported previously. Hence, it is necessary to examine the expression levels of genes that produce catalase and hydroxyl radical degradation. *A. actinomycetemcomitans* form persister by treatment with 4xMIC hydrogen peroxide. This persister could be sterilized by gentamicin and mitomycin C, respectively.

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

1-P2-PM26 化膿レンサ球菌の不活性型ヒアルロン酸分解酵素の結晶構造解析と活性型変異体の構造予測

○東 孝太郎^{1,2}, 山口 雅也¹, 中田 匡宣³, 武部 克希⁴, 住友 倫子¹, 鈴木 守⁵,
川端 重忠¹

¹阪大 院歯 口腔細菌, ²阪大 院歯 義歯・高齢, ³鹿大 院医歯 口腔微生物, ⁴阪大 院歯 口外2, ⁵阪大 蛋白研

化膿レンサ球菌は、咽頭炎や扁桃炎などの局所性感染症の原因菌であるとともに、壊死性筋膜炎などの全身性の劇症型感染症を引き起こす。肺炎球菌やB群レンサ球菌は、病原因子であるヒアルロン酸を二糖に分解する酵素を産生する。しかし、*emm4*型や*emm22*型などを除く化膿レンサ球菌の大部分は、不活性型のヒアルロン酸分解酵素 HylA を保有している。活性の有無は172番目のアミノ酸1残基の変異によって生じている。本研究では、化膿レンサ球菌の HylA について1残基変異がタンパク質の構造、および機能に及ぼす影響を検討した。

*emm1*型化膿レンサ球菌の不活性型 HylA について、X線結晶構造解析にて構造を決定した。肺炎球菌ホモログの機能部位との相同残基は、ほとんどが構造的に保存されていた。不活性型 HylA の172番目のバリン側鎖が水素結合を形成できず、その周辺に位置する一部の活性残基が Disorder 領域となり、ヘリックスを形成せずにループとなっていた。つまり、活性残基の向きが安定しないことで酵素活性を示さないことが示唆された。一方で、ヒアルロン酸との結合能について AutoDock vina を用いて予測したところ、結合可能であることを示唆する複合体構造のモデルと結合エネルギーが得られた。また、構造予測プログラム MODELLER を用いて、今回決定した構造と既報の他のレンサ球菌のホモログの構造から、活性型である *emm4* 型の HylA の構造を予測したところ、不活性型 HylA で Disorder 領域となっていた172番付近の残基においてヘリックス構造が形成され、活性残基の側鎖の向きが一定となることが示唆された。

これらの結果から、活性中心外の1残基の変異により周辺の二次構造が変化し、ヒアルロン酸の分解活性は欠失したことが示唆された。一方で、結合部位を構成する残基は構造的に保存されているため、糖鎖結合能は有している可能性が示された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Structural analysis of *Streptococcus pyogenes* hyaluronidase and *in silico* analysis based on structural models

○Higashi K^{1,2}, Yamaguchi M¹, Nakata M³, Takebe K⁴, Sumitomo T¹, Suzuki M⁵,
Kawabata S¹

¹Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, ²Dept Prosth Gerodont, Osaka Univ Grad Sch Dent, ³Dept Oral Microbiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁴Dept Oral Surg 2, Osaka Univ Grad Sch Dent, ⁵Inst Protein Res, Osaka Univ

Most *Streptococcus pyogenes* serotype strains possess HylA, an inactive hyaluronidase, though some derived strains such as M4 carry the point mutation V172D, which confers hyaluronidase activity. We investigated the effects of a point mutation in HylA on protein structure and function.

The structure of inactive HylA in serotype M1 was determined using X-ray crystallography, which showed that most of the functional residues were structurally conserved as compared to homologs of *Streptococcus pneumoniae*. The V172 side chain on M1HylA did not have a hydrogen bond and active residues adjacent to V172 were disordered. These structure findings indicate that reduced stability of active residues causes lack of hyaluronidase activity. Using AutoDock Vina, molecular interaction between inactive HylA and hyaluronan was predicted. Obtained complex models and affinity showed that inactive HylA possibly contains a hyaluronan binding ability. An active HylA structure derived from the M4 *S. pyogenes* strain was predicted using MODELLER and residues adjacent to V172D formed a helix in the predicted model. These results indicate that a point mutation out of the HylA active site changes the secondary structure and diminishes hyaluronidase activity. On the other hand, the binding region was structurally conserved, indicating retained hyaluronan-binding ability.

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

1-P2-PM27 *Streptococcus mutans* におけるバクテリオシン産生遺伝子群の挿入に伴うバクテリオシン耐性因子の遺伝子再構成について

○Le Nguyen Tra Mi, 松尾 美樹, 小松澤 均

広大院医 細菌

Mutacin と ナイシン A はそれぞれ *Streptococcus mutans* と *Lactococcus Lactis* が産生するバクテリオシンであり、生体内において他の細菌と競合するための因子である。*S. mutans* において、NsrX がナイシン A に対する耐性因子であることが報告されているが、NsrX を持たない株もナイシン A に耐性を示すことがある。私たちは *S. mutans* におけるナイシン A の耐性に関与する因子を網羅的に解析し、併せて Mutacin 耐性への関与も検討した。本研究に先立って分離した 124 株の全ゲノム解析の結果、ナイシン耐性に関与する領域 (Nsr 領域) は *mutFEG*, *nsrX* および *mutXYZ* の 3 つの耐性因子の保有状況により、6 つのタイプに分類した。Nsr-type D-I, D-III, E はそれぞれ Mutacin I, Mutacin II, B-Ny266 (Mutacin IIIb) の合成遺伝子オペロンが Nsr 領域の上流に存在していた。NsrX は Nisin A に耐性を示したが 3 つの Mutacin の感受性には影響がなかったが、新規因子である MutXYZ は Mutacin に耐性を示したが、Nisin A には耐性を示さなかった。MutFEG は 3 つのタイプがあり、 α 型は Nsr-type C と D-I, β 型は Nsr-type B と III, γ 型は typeE が属し、 α 型は Mutacin I の耐性に関与し、 β と γ 型は Mutacin III, B-Ny266, Nisin A の耐性に強く関与していた。私たちの研究により、バクテリオシンの存在がどのように耐性因子の遺伝子の再構成をもたらす適応するかが明らかになった。このことは今後の系統解析におけるマーカーとしての有用性が示された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Gene rearrangement and modification patterns of immunity factors correlate with the insertion of bacteriocin cassettes in *Streptococcus mutans*

○Le M, Matsuo M, Komatsuzawa H

Dept Bacteriol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

Streptococcus mutans and *Lactococcus lactis* produce some kinds of bacteriocin, namely Mutacins and Nisin A, respectively, to compete with other bacteria. In *S. mutans*, NsrX is an immunity factor for Nisin A, however, those without NsrX sometimes show resistance to Nisin A. To clarify this issue, we comprehensively investigate the elements responsible for Nisin A resistance in *S. mutans*, and their contribution to Mutacin resistance. Based on 124 *S. mutans* genome sequences, we classify Nisin-resistance (Nsr) region into six types by different combinations of 3 immunity factors: *mutFEG*, *nsrX*, and *mutXYZ*. Nsr-types D-I, D-III, and E isolates carry the Mutacins I, III, and B-Ny266 synthesis operon upstream of Nsr region, respectively. NsrX effectively acts against Nisin A but not Mutacins, whilst the newly identified ABC transporter MutXYZ acts against 3 Mutacins but not Nisin A. Three types of MutFEG were identified: α (Nsr-types C and D-I), β (Nsr-types B and D-III), and γ (Nsr-type E). MutFEG- α significantly contributes to Mutacin I resistance, while MutFEG- β and γ significantly contribute to Mutacin III, B-Ny266, and Nisin A resistance. Our study explains how the immunity factors rearrange and adapt with the presence of bacteriocins, providing potential phylogenetic markers in future studies for Streptococci.

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

1-P2-PM28 *Streptococcus mutans* が産生するバクテリオシンの包括的解析

○渡邊 温子¹, 松尾 美樹², Le Nguyen Tra Mi², 小松澤 均²

¹鹿大 院医歯 矯正, ²鹿大 院医 細菌

【目的】う蝕原因菌で、口腔常在細菌の一つである *Streptococcus mutans*(以下 Sm)は細菌に対して抗菌活性を示す複数のバクテリオシンを産生することが報告されている。しかし、これらのバクテリオシンを包括的に解析した研究はこれまでにほとんどない。そこで本研究では、Sm の臨床分離株 125 株を用いて各バクテリオシン遺伝子 (MutacinI-IV, K8 および Smb) の分布および各菌株が産生するバクテリオシンの抗菌活性について解析した。【方法】ボランティアの口腔から分離した 125 株の Sm の全ゲノム配列を決定し、各バクテリオシン遺伝子 (Mutacin I-IV, K8 および Smb) の分布を解析した。また、各菌株のバクテリオシン遺伝子の発現量を定量性 PCR にて検証した。各菌株の他の口腔レンサ球菌種および口腔常在細菌種に対する抗菌活性については、direct 法により検証した。【結果と考察】MutacinI, MutacinII, MutacinIII の遺伝子配列と 100%一致するバクテリオシン遺伝子を保有する菌株はそれぞれ 17, 5, 2 株見つかった。MutacinIII に変異が 2 か所存在する株が 5 株あった。MutacinIV 遺伝子保有株は 67 株あり、そのうち 38 株は MutacinIV 遺伝子と 100%一致し、29 株は変異が存在した。MutacinK8 遺伝子保有株 23 株および Mutacin Smb 遺伝子保有株 32 株は、1 株を除きすべての株でゲノム配列は 100%一致していた。125 株の Sm のうち、84 株 (65.1%) は各バクテリオシン遺伝子の単独保有株であった。これらの菌株の口腔連鎖球菌および他の口腔細菌種に対する抗菌活性は保有するバクテリオシン遺伝子ごとに異なるパターンの抗菌活性を示した。以上の結果から個々の Sm 株がプラークの構成割合に影響を与える可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Comprehensive analysis of bacteriocins in *Streptococcus mutans*

○Watanabe A¹, Kawada-Matsuo M², Le M², Komatsuzawa H²

¹Dept Orthodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Dept Bacteriol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

Streptococcus mutans produces bacteriocins that show antibacterial activity against several bacteria. However, comprehensive analysis of these bacteriocins has not been well done. In this study, we isolated 125 *S. mutans* strains from volunteers and determined their whole genome sequence. Based on the genome analysis, the distribution of each bacteriocin gene (mutacins I-IV, K8 and Smb) was investigated. We found 17, 5, and 2 strains showing 100% matches with mutacin I, mutacin II and mutacin III, respectively. Five mutacin III-positive strains had 2 mismatches compared to mature mutacin III. In 67 mutacin IV-positive strains, 38 strains showed 100% match with mutacin IV, while 29 strains showed some variations. In 23 mutacin K8- and 32 mutacin Smb-positive strains, all except one mutacin K8-positive strain showed 100% match with the mature peptides. Among 125 strains, 84 (65.1%), 26 (20.2%), and 5 (3.9%) strains were positive for one, two and three bacteriocin genes, respectively. Then, the antibacterial activity against oral streptococci and other oral bacterial species was investigated by using bacteriocin gene single-positive strains. Each bacteriocin gene-positive strain showed a different pattern of antibacterial activity. These results speculate that individual *S. mutans* strains may affect the bacterial composition of dental plaques.

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

1-P2-PM29 歯周基本治療が歯周炎局所マイクロバイームに与える影響

○高倉枝里子¹, 石原 和幸²

¹東歯大短大 歯科衛生, ²東歯大 微生物

【目的】歯周炎の病因には、ディスバイオーシスが重要な役割を果たすと考えられているが、マイクロバイームの変化と病態の関わりについては未だ不明な点が多い。本研究では、歯周基本治療による歯肉縁下マイクロバイームの変化の網羅的解析を試みた。

【方法】インフォームドコンセントを得た慢性歯周炎患者7名を対象とし、プロービングデプス5 mm以上の歯周ポケット2箇所と、3 mm以下の健常部位1箇所をサンプル採取部位とした。歯肉縁下プラークサンプル採取は、初診時、歯周基本治療2週間および、4週間に行った。臨床パラメーターの記録は、初診時と4週間に行った。採取したサンプルからDNAを抽出し、16S rRNAのV3-V4領域塩基配列をMiseqにより決定した。それを基にoperational taxonomic unit (OTU)を決定し、Qiime2によりマイクロバイームの比較を行った。

【結果と考察】健常部位は、歯周基本治療前後で α 多様性および β 多様性に変化が認められなかった。歯周炎部位では、歯周基本治療によりOTU数の減少と β 多様性の変化が認められた。この変化は4週間後まで持続していた。歯周基本治療後は、歯周病原性を持つ*Porphyromonas*, *Treponema*, *Fusobacterium*, *Fretibacterium*等の有意な減少と、健常なデンタルプラークの主要な菌種である*Actinomyces*, *Rothia*, *Streptococcus*の有意な増加が認められた。これらの結果から、健常部位の歯肉縁下マイクロバイームは、歯周炎部位と比較し高い安定性を有しており、歯周炎部位では、歯周基本治療によって歯周病原性を持つ細菌の存在量が減少し、歯肉縁下マイクロバイーム組成が改善することが示された。

【会員外共同研究者】齋藤 淳, 富田 幸代(東歯大 歯周)

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effect of initial periodontal therapy on the subgingival microbiome of patients with periodontitis

○Takakura E¹, Ishihara K²

¹Tokyo Dent Junior Coll, Dent Hygiene, ²Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll

Dysbiosis is the major etiologic factor of periodontitis. However, the relationship between microbiome alterations and severity/symptoms of periodontitis is yet to be clarified. In the present study, we investigated the effect of initial periodontal therapy on the subgingival microbiome of periodontitis patients. Seven periodontitis patients provided informed consent and their subgingival microbiomes were analyzed. Subgingival plaque samples were obtained from two periodontitis sites and one healthy site from each patient before initiating periodontal therapy, and at 2 and 4 weeks after therapy. DNA was isolated from each sample, and the V3-V4 region of each 16S rRNA sequence was sequenced and analyzed via MiSeq and QIIME 2. No alteration in microbiome with treatment was observed at healthy sites. In sites with periodontitis, a reduction in species-richness and a change in β diversity with treatment was observed. This alteration persisted for up to 4 weeks post-treatment. Treatment was associated with decreases in the abundances of *Porphyromonas*, *Treponema*, *Fusobacterium*, and *Fretibacterium*, and increases in those of *Actinomyces*, *Rothia*, and *Streptococcus*. These results indicate that the microbiome at healthy sites possesses high resilience compared to that at sites with periodontitis, and that initial periodontal therapy reduced the abundance of genera containing periodontopathic bacteria.

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

1-P2-PM30 口腔カンジダ症患者と非口腔カンジダ症患者由来の *Candida albicans* の性状の比較

○大内 千里^{1,2}, 長谷部 晃¹

¹北大 院歯 口腔分子微生物, ²北大 院歯 口腔診断内科

口腔カンジダ症は口腔内の常在菌である *Candida* 属菌種による日和見感染であり, *Candida* 菌は宿主の加齢や薬剤による免疫機能の低下, 口腔乾燥や義歯の使用によって増殖し, 口腔内の疼痛や味覚異常などの様々な症状を引き起こすことが知られている. しかし宿主側だけではなく *Candida* 菌自体の違いもある可能性があるのではないかと考え, 口腔カンジダ症患者と非口腔カンジダ症患者由来の *Candida albicans* を用いて病原性を比較・検討することにした. 対象は北海道大学病院歯科診療センターを受診し口腔内の疼痛等の症状を訴えカンジダ検査を実施した患者とした. 歯科用ミラーにて舌背を10回程度擦過し採取したサンプルを *Candida* 菌と特異性の高いクロモアガー培地に接種し48時間インキュベーターにて培養した. その結果, 当センター診断基準に基づきコロニーが10個以上あったものを口腔カンジダ症, コロニーが検出されても10個未満であったものを非口腔カンジダ症と判断した. クロモアガー培地で検出された *C. albicans* をサブロー液体培地で培養後, 使用時まで冷凍保存した. これらの冷凍保存株を用いて以下の, 1) 寒天培地を用いた細胞外分泌酵素活性 (アスパラギン酸プロテアーゼ, ホスホリパーゼ, エステラーゼ, ヘモリジン) の測定, 2) PCR による *C. albicans* の遺伝子型の同定, 3) 口腔上皮細胞系細胞の *C. albicans* 刺激で誘導される IL-8 の ELISA 法による測定, ならびに 4) *C. albicans* により誘導される口腔上皮細胞系細胞への細胞死の誘導を LDH の測定で調べる方針とし, 結果を比較して口腔カンジダ症患者と非口腔カンジダ症患者での病原性の違いを検討した.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Comparison of the properties of *Candida albicans* derived from patients with oral candidiasis and without oral candidiasis

○Ouchi C^{1,2}, Hasebe A¹

¹Dept Oral Mol Microbiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ²Dept Oral Diagn Med, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Oral candidiasis (OC) is an opportunistic infection caused by the commensal fungus *Candida*. OC has mainly been considered to occur due to the condition of the host, however, we thought that there might be differences not only in the host but also in *Candida* itself. Therefore, we examined the pathogenicity of *Candida albicans* in patients with OC and non-OC. The samples were collected from patients by scraping the dorsum of the tongue 10 times with a dental mirror, and then inoculated into Chromo-Agar, which is highly specific for *Candida*, and incubated in an incubator for 48 hours. The sample from patients which formed 10 or more colonies was judged to have OC, while those with fewer than 10 colonies, even if detected, were judged as non-OC. *C. albicans* detected in Chromo-Agar was cultured in Sabouraud dextrose liquid medium and examined its pathogenicity as follows. (1) Measurement of extracellular secretory enzyme activities (aspartic protease, phospholipase, esterase, hemolysin) on agar, (2) Identification of *C. albicans* genotypes by PCR, (3) Measurement of IL-8 induced by *C. albicans* stimulation of oral epithelial cells by ELISA, and (4) Measurement of cell death induced by *C. albicans* in oral epithelial cells by LDH.

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

1-P2-PM31 口腔扁平上皮癌患者が保有する特徴的な歯周病原菌の同定

○中島慎太郎^{1,2,3}, 來生 知³

¹日歯大 生命歯, ²日歯大 生命歯 発生・再生, ³横浜市大 医学 顎顔面口腔機能

【背景・目的】病原体の感染による慢性炎症は、発癌のリスクを高めることが知られている。歯周病原菌の感染による慢性炎症性疾患である歯周病も、発癌に關与する可能性があるが、口腔内環境に常に暴露されている口腔癌をはじめ、両疾患の直接的な關連は明らかではない。我々は、特定の歯周病原菌の感染が口腔扁平上皮癌（OSCC）の発症や増悪に關連していると仮説を立て、OSCC患者の口腔内に存在する特徴的な歯周病原菌を同定することを目的に本研究を行った。

【方法】対照（Control）群 112 例、口腔潜在的悪性疾患（OPMD）群 36 例、OSCC 群 104 例に対して、歯周組織検査と舌細菌数測定を行った。口腔含漱液から抽出した DNA を用いて、polymerase chain reaction（PCR）による歯周病原菌の検出を行った。各群 20 例の DNA を用いて、次世代シーケンサーによる細菌叢解析を行った。

【結果・結論】臨床項目の統計学的解析から、OSCC 群では、Control 群と比較して、残存菌数、breeding on probing、舌細菌数に有意差を認めた。PCR 結果の解析から、OSCC 群では *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola* を有する患者の割合が高かった。細菌叢解析から、Unifrac 距離による 3 群間の細菌組成の類似度（ β 多様性）に有意差を認めた。また、種レベルにおける細菌の存在比率を ALDEx2 で比較した結果、OSCC 群では、Control 群と比較して *Prevotella buccae*, *Prevotella intermedia* の存在比率が高かった。また、OPMD 群では、Control 群と比較して、*Filifactor alocis* の存在比率が高かった。以上より、OSCC 群では歯周病が進行していること、各群に共通する歯周病原菌の存在割合の変化と特有の口腔内細菌の存在によって、Control 群とは異なる細菌叢が形成されていることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Identification of specific periodontal pathogens of oral squamous cell carcinoma patients

○Nakajima S^{1,2,3}, Kioi M³

¹Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ²Dept Dev Regen Dent, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ³Dept Oral Maxi Surg, Yokohama City Univ

Many studies report that periodontal disease is involved in the development of oral squamous cell carcinoma (OSCC). However, the direct effect of periodontal disease in the development of OSCC remains unknown. We hypothesized that specific periodontal pathogens infection is involved in the development of OSCC. This study aimed to identify specific periodontal pathogens of OSCC patients. As a result of the periodontal examination to the Control (112 patients), the oral potential malignant disorders (36 patients), and the OSCC (104 patients) group, the periodontal disease worsened in the OSCC group rather than the other two groups. As a result of periodontal pathogens detection by PCR using DNA extracted from oral rinsed saline, the percentages of patients infected with several periodontal pathogens were high in the OSCC group. Furthermore, the oral microbiome analysis using DNA from 20 patients in each group revealed a significant difference in the beta-diversity by the Unifrac distance among the three groups. These results suggest that periodontal disease is progressing in the OSCC group, and an oral bacterial flora different from that in the control group is formed due to changes in the relative abundance of periodontal pathogens common to each group and the presence of specific bacteria.

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

1-P2-PM32 *Porphyromonas gulae* 線毛遺伝子多型のバイオフィーム形成能への影響

○吉田 翔, 稲葉 裕明, 仲野 道代

岡大 院医歯薬 小児歯

【目的】動物由来歯周病原菌 *Porphyromonas gulae* は線毛を保有しており、核酸配列の違いにより A-C 型の 3 つに分類される。これまでの研究成果から *P. gulae* の病原性と線毛のタイプが密接に関連していることを明らかにした。線毛はバイオフィーム形成の重要な因子であるが、*P. gulae* においてバイオフィーム形成と線毛との関係は明らかでない。本研究では *P. gulae* バイオフィーム形成と線毛との関連性を検討した。

【方法】*P. gulae* ATCC51700 と D066 (A 型), D040 と D044 (B 型), D049 と ST9-1 型 (C 型) を供試菌とした。96 穴プレート上で 37°C の嫌気条件下で 24 時間培養しバイオフィームを形成させ、OD600 による吸収値にてバイオフィーム形成量を評価した。またチャンバークラス上で同様に 37°C の嫌気条件下で 24 時間培養した。形成されたバイオフィームをヘキシジウムイオダイドで染色後、共焦点レーザー顕微鏡を用いてバイオフィームを観察した。さらに菌株間の結合度を調べるため、超音波破碎試験を行った。破碎されたバイオフィームはクリスタルバイオレット染色後、95%エタノールに抽出し、OD600 による吸収値にてバイオフィーム残存量を評価した。

【結果と考察】供試菌 6 株のうち、C 型線毛保有 D049 株と ST9-1 株は A ならびに B 型線毛保有株と比較して有意にバイオフィーム形成量の増加を示した。B ならびに C 型線毛保有株は A 型に対して高い密度を示した。超音波破碎試験では、D049 株、ST9-1 株は有意に高い抵抗性を示し、堅固なバイオフィームを形成することが明らかになった。これらの結果から、*P. gulae* は線毛タイプ依存性にバイオフィームが堅固なものとなり、C 型線毛保有株が高い病原性を発揮している可能性を示唆した。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effects of FimA variations on biofilm formation by *Porphyromonas gulae*

○Yoshida S, Inaba H, Matsumoto-Nakano M

Dept Pediatr, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

[Purpose] Animal-derived pathogen *Porphyromonas gulae* strains possess fimbriae classified into three typable variants (type A, B, C). Those with type C fimbriae are reportedly more virulent as compared to the others. While the involvement of fimbriae in biofilm formation by several different pathogens has been reported, the relationship to *P. gulae* biofilm formation has yet to be elucidated. Here, we report findings showing that biofilm formation by *P. gulae* is dependent on *fimA* genotype.

[Method] *P. gulae* ATCC 51700 and D066 (*fimA* type A), D040 and D044 (*fimA* type B), D049 and ST9-1 (*fimA* type C) were the strains used in this study. The amount of *P. gulae* biofilm was quantified by crystal violet (CV) staining and biofilms stained with hexidium iodide were observed using confocal laser scanning microscopy. Furthermore, biofilms were subjected to ultrasonication with continuous CV staining to investigate binding strength between bacterial cells.

[Results & Discussion] The D049 and ST9-1 strains showed significantly greater amounts of formed biofilm as compared with the type A and B strains. Results of testing for resistance against ultrasonication showed significant resistance by D049 and ST9-1 as compared with the type B strains. These results suggest that *P. gulae* biofilm formation is dependent on *fimA* genotype.

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

1-P2-PM33 *Streptococcus mutans* 由来メンブレンベシクルによる *Actinomyces* のバイオフィーム形成に対する細胞外 DNA の影響

○鈴木 到¹, 岩淵 祐介², 泉福 英信³

¹日大松戸歯 小児歯, ²医科歯科大 院医歯 小児・障害者, ³日大松戸歯 感染免疫

う蝕原因菌の一つである *Streptococcus mutans* は増殖の際に、メンブレンベシクル (MV_s) を放出している。この MV_s にはグルコシルトランスフェラーゼ B (GtfB) と GtfC が結合し、*Actinomyces* を含む様々な初期付着菌のバイオフィーム形成の誘導に関与している。このバイオフィーム形成の誘導は、GtfC が GtfB よりも多く MV_s に結合し、水溶性グルカンおよび非水溶性グルカンを合成することが関与している。しかし、その詳細は明らかになっていない。近年、口腔細菌の付着に細胞外 DNA (eDNA) が関与することが明らかになった。そこで本研究では、*S. mutans* 由来 MV_s による *Actinomyces* のバイオフィーム形成メカニズムに eDNA が影響するか検討を行った。様々な *S. mutans* 由来 MV_s を採取するために、塩酸、乳酸、酢酸を用いて調節した pH6.0 の 0.25% スクロース含有トリプチケースソイ培地 (TSBs) と、水酸化ナトリウムを用いて調節した pH8.0 の TSBs および通常 pH7.2 の TSBs にて、*S. mutans* UA159 を培養した。それぞれの培養上清から超遠心を用いて MV_s を採取した。pH6.0 TSBs で培養して採取した MV_s は GtfC の結合量が減少していた。pH8.0 TSBs で培養して採取した MV_s は GtfC の結合量が増加していた。これらの MV_s を *Actinomyces naeslundii* X600 に加え TSBs で培養すると、それぞれバイオフィーム形成が促進された。これらのバイオフィーム形成時に DNase-I を添加すると、バイオフィーム形成が有意に抑制された。以上の結果から、GtfC の量に関係なく MV_s に依存した *A. naeslundii* のバイオフィーム形成は、eDNA が関与していることが明らかとなった。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effect of extracellular DNA for biofilm formation of *Actinomyces* by membrane vesicle of *Streptococcus mutans*

○Suzuki I¹, Iwabuchi Y², Senpuku H³

¹Dept Pediatr Dent, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ²Dept Pediatr Dent, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, ³Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

Streptococcus mutans is one of cariogenic bacteria and releases a membrane vesicle (MV_s) at the time of bacterial growth. MV_s of *S. mutans* combine with Glycosyltransferase B (GtfB) and GtfC, and associate with biofilm formation of initial attachment bacteria such as *Actinomyces*. This biofilm formation was induced by soluble and insoluble glucan on the MV_s. It was associated with that GtfC combine with MV_s more than GtfB. However, this detail is not entirely clear. Extracellular DNA (eDNA) associates with attachment of oral bacteria. In this study, we investigated whether eDNA influenced biofilm formation mechanism of *Actinomyces* by MV_s derived from *S. mutans*. Tryptic soy broth including 0.25% sucrose (TSBs) prepared with HCl, lactic and acetic acid (pH6.0), TSBs prepared with NaOH (pH8.0) and TSBs (pH7.2) were used for incubation of *S. mutans* UA159. Each supernatant was centrifugated for obtain of MV_s. Combine levels of GtfC in MV_s were decreased at pH6.0 but increased at pH8.0. Biofilm formation of *Actinomyces naeslundii* X600 were increased when these MV_s were applied. These biofilm formations induced with these MV_s were inhibited by DNase-I. Taken together, we revealed that eDNA contributed with MV_s-dependent biofilm formation of *A. naeslundii* without amount of GtfC.

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

1-P2-PM34 S-PRG フィラーが口腔細菌に及ぼす抗菌効果と抗菌機序

○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 I, ³日大 歯 細菌, ⁴日大 総歯研 生体防御

【目的】近年、齲蝕や歯周病が全身疾患の発症に関わる可能性について数多く報告されている。これら口腔疾患の原因となる口腔病原菌数を減少させる口腔ケアは口腔内外疾患の予防として重要である。日々の効果的なセルフケアとして歯磨きがあるが、より効率よく歯垢を除去するために様々な成分を含有する口腔ケア剤が用いられている。しかし、成分によっては耐性菌の出現などが報告されていることから、長期使用可能な新たな抗菌成分を見出すことが急務である。S-PRG フィラーは6種のイオンを放出するリチャージ可能な新規バイオアクティブマテリアルであり、口腔細菌に及ぼす抗菌効果・機序に関する報告は未だ少ない。そこで今回、S-PRG フィラーの口腔内細菌に及ぼす抗菌機序と病原因子の抑制効果について検討した。【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*, *S. mitis* および *Porphyromonas gingivalis* を用いた。各細菌細胞をイオン水含有培地で培養後、細胞内のSOD量と過酸化水素量を測定した。また、イオン水による *S. mutans* の付着能と、*S. mitis* のノイラミニダーゼ活性と *P. gingivalis* のジンジパイン活性を測定して病原因子への影響を調べた。【結果および考察】培地添加イオン水の濃度に依存してすべての細菌細胞内のSOD量と過酸化水素量が増加し、菌種によって差が認められた。さらにイオン水の存在によりそれぞれの病原因子も抑制されていた。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供試した口腔細菌に酸化ストレスを与えることと病原因子を抑制することが確認され、臨床応用への可能性が示唆された。（学会会員外協力者 日本大学歯学部口腔外科学講座 外木守雄, 株式会社 松風 中塚稔之）

【利益相反】利益相反状態にはありません。

S-PRG filler on oral bacteria: Antibacterial effect and mechanism

○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, Div Oral Surg Nihon Univ Sch Dent, ³Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent, ⁴Div Immunol Pathobiol Res Cent, Nihon Univ Sch Dent

Recently, many reports have been reported that oral disease may be involved in the development of systemic diseases. Thus, reducing the number of oral pathogens is important. However, since some problems have been reported, such as appearance of resistant bacteria in oralcare agents, it is urgent to develop a component having a new antibacterial action that can be used for a long period of time. S-PRG filler is a novel bioactive material that can be recharged to release 6 types of ions. Here, we confirmed the antibacterial mechanism of S-PRG filler on oral bacteria. The supernatant obtained by immersing the S-PRG filler as a sample, and *Streptococcus mutans*, *S. mitis*, and *Porphyromonas gingivalis* as test strains were used in this study. After culturing each bacterial cells in an ionized water-containing medium, the amount of both intracellular SOD and hydrogen peroxide, and the adhesion or proteinases ability were measured. Ionized water-induced oxidative stress was observed in a concentration-dependent manner, moreover, each virulence factor was also suppressed by ionized water. From the above results, it is confirmed that the S-PRG filler exerts oxidative stress on oral bacteria and suppresses pathogenicity, insinuating the possibility for clinical application.

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

1-P2-PM35 次世代シーケンサーを用いた出生から生後36か月までの主要な口腔細菌推移の解析

○山 和馬¹, 會田 悠人¹, 井口 拓弥¹, 市場 有子¹, 城 隆太郎², 奥田 卓馬²,
堤 康太², 森嶋 清二³, 柿澤 恭史¹

¹ライオン(株) 先進解析科学研, ²ライオン(株) オーラルケア研, ³(公財)ライオン歯科衛生研

【目的】出生からの乳幼児期の口腔細菌叢形成過程に関しては未だ不明な点が多く残されている。本報告では乳幼児期の口腔細菌叢が成人に近づく過程を明らかにすることを目的に、成人(両親)の口腔細菌叢における主要な細菌群に着目し、それらの乳幼児期における検出率を継時的に解析した。

【方法】本研究は乳幼児55名(男児27名, 女児28名)及びその両親を対象に実施した(一般社団法人日本口腔衛生学会倫理委員会承認, 第26-5号)。乳幼児の口腔サンプルとして、Salimetrics Infant Swab (SalivaBio)を用いて生後1週間, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30及び36か月の時点で唾液を採取した。両親からは、乳幼児の生後36か月の時点で洗口吐出液(蒸留水3mLで約10秒間洗口した吐出液)を採取した。細菌叢の測定は、サンプルより抽出した細菌由来DNAの16SrDNA v1-v2領域をPCR増幅し、Miseqプラットフォームによるシーケンスに供して各サンプル3000リードのDNA配列を取得した。その後、得られた全配列を用いて97%以上の相同性を持つ配列ごとにOTU (Operational Taxonomic Unit)を作成、両親から高頻度に検出されたOTUに着目し、生後36か月までの乳幼児からの検出率を解析した。

【結果】父親、母親の各8割以上の人から共通して検出されたOTUを69個抽出した。これらOTUの乳幼児の各月齢における検出率を算出した結果、生後1週間で約25%を示し、その後月齢とともに増加し生後18か月では約75%のOTUが検出された。生後18か月で検出されたOTUは、5つの門に属する多様な菌種であり、歯周病や口臭に関わるとされる*Fusobacterium nucleatum*などが含まれていた。更に、Unifrac Distanceを用いた解析を行ったところ、口腔細菌叢が生後18か月にかけて成人に類似していく様子が確認された。以上より、口腔細菌叢の形成は生後18か月までの間に急速に進み、生後18か月で既に成人の口腔細菌叢に大きく近づいていることが認められた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Trajectories of high prevalent oral bacteria during the first 36 months of life using next-generation sequencer

○Yama K¹, Aita Y¹, Inokuchi T¹, Ichiba Y¹, Jo R², Okuda T², Tsutsumi K², Morishima S³,
Kakizawa Y¹

¹Adv Anal Sci Res Lab, LION Corp, ²Oral Care Res Lab, LION Corp, ³The Lion Foundation for Dent Health

We investigated the changes in the oral microbiome until 36 months of age, focusing on the high prevalent oral bacteria. This study was conducted on 55 infants and their parents. Infants' saliva was collected at 1 week, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30 and 36 months of age using the dedicated Swab. Parents' saliva samples were collected as mouth-rinsed water. To measure the microbiome, DNA sequences of the bacterial 16S rDNA v1-v2 regions was analyzed with next-generation sequencer and OTU (Operational Taxonomic Unit)s were created. We focused the high prevalent 69 OTUs that are detected more than 80% both in fathers and mothers. Detection rate of these OTUs at 1 week of age was about 25%. The rate was significantly increased to 18 months of age. OTUs detected at 18 months of age contained various species including *Fusobacterium nucleatum* which is involved in periodontal disease and halitosis. The unifrac distance showed that the oral microbiome of infants becomes more like that of adults over the first 18 months of life. These results suggest that the first 18 months of life is the important period for establishment of oral microbiome, as 18 month is already close to adults.

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

1-P2-PM36 肺炎球菌に対する抹茶成分の作用解析

○笹川 花梨^{1,2}, 土門 久哲^{1,3}, 平山 悟¹, 前川 知樹^{1,2,3}, 磯野 俊仁¹, 日吉 巧^{1,2,3},
田村 光^{1,2}, 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 高口セ

【目的】日本では誤嚥性肺炎を含めた肺炎により、年間 13 万人以上が死亡している。肺炎球菌は、誤嚥性肺炎を含めた肺炎の主たる起因細菌であり、抗菌薬の不適切な使用等により薬剤耐性化が進行している。そして、現行ワクチンによる感染予防効果も高くはない。そのため、抗菌薬に依存しない新たな抗菌物質の探索等が必要となっている。本研究では、抹茶成分による肺炎球菌の殺菌作用、ならびに同菌の細胞膜孔形成毒素（ニューモリシン）に対する抑制効果を解析した。

【方法】飲用濃度（20 mg/mL）の抹茶の加熱上清を調整後、肺炎球菌の実験室標準株 D39 および多剤耐性株 KM256（ペニシリン、アジスロマイシンおよびレボフロキサシンに耐性）の培養上清へ添加し、殺菌作用をコロニーカウント法にて算出した。次に、抹茶上清ならびにカテキン類の水溶液が、ニューモリシンの細胞傷害作用に及ぼす影響を調べた。すなわち、ヒト血液から単離した好中球に換えニューモリシンを作用させ、同時に抹茶上清もしくはカテキン水溶液を添加した後、Live/Dead 染色像を共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。続いて、赤血球の細胞膜上にニューモリシンの複合体を形成させる際、同時にカテキン類を添加し、複合体形成阻害能を Western blot 法にて解析した。【結果】抹茶の加熱上清は薬剤耐性の有無に関わらず、肺炎球菌に対して抗菌作用を示した。また、ニューモリシンのみを添加した好中球の生細胞率と比較し、抹茶上清もしくはカテキン類の水溶液を同時に添加した群の生細胞率は有意に高かった。さらに、カテキン類は、赤血球膜上におけるニューモリシンの複合体形成を抑制した。【考察と結論】飲用濃度の抹茶は、多剤耐性株を含めた肺炎球菌に対して殺菌作用を示した。そして、抹茶に含まれるカテキン類は、ニューモリシンの複合体形成を阻害することで、細胞傷害作用を抑制することが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

The effect of matcha green tea on *Streptococcus pneumoniae*

○Sasagawa K^{1,2}, Domon H^{1,3}, Hirayama S¹, Maekawa T^{1,2,3}, Isono T¹, Hiyoshi T^{1,2,3},
Tamura H^{1,2}, Terao Y^{1,3}

¹Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Div Periodontol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ³Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Objectives: *Streptococcus pneumoniae* is a leading cause of bacterial pneumonia. Antibiotics are the primary line of treatment for pneumonia; however, the frequency of isolation of antimicrobial resistance has increased in recent years. This study examined the effect of matcha green tea and its constituents on *S. pneumoniae* and the pneumococcal pore-forming toxin (pneumolysin). **Materials and Methods:** Matcha was prepared at potable concentrations (20 mg/mL) and centrifuged. The supernatants were added to a laboratory *S. pneumoniae* strain D39 or a multidrug-resistant strain KM256, then their bactericidal effects were analyzed by counting colony-forming units. Additionally, we investigated whether matcha supernatants and catechins, components of matcha, inhibit the cytotoxicity of pneumolysin against neutrophils using a confocal laser microscope. Furthermore, we analyzed the inhibitory effect of catechins on pneumolysin pre-pore complex on the cell membrane of erythrocytes by Western blot. **Results and Conclusion:** Matcha supernatants showed antibacterial activity against the examined *S. pneumoniae* strains. In neutrophils with matcha or catechins, the number of damaged cells by pneumolysin was lower than the without matcha. Catechins inhibited the formation of pneumolysin pre-pore complex. These findings suggest that matcha green tea and catechins decrease the cytotoxicity of pneumolysin by inhibiting the pre-pore complex.

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

1-P2-PM37 緑膿菌の抗菌薬耐性を調節する遺伝子の検索

○パレヴィ ムハンマドレザ¹, 村上 圭史², 藤猪 英樹¹

¹徳大 院医歯薬 口腔微生物, ²川崎医療福祉大

Searching for genes regulating antibiotic tolerance in *Pseudomonas aeruginosa*

○Pahlevi M¹, Murakami K², Fujii H¹

¹Dept Oral Microbiol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, ²Kawasaki Univ Med Welfare

Purpose

Antibiotic tolerance is a phenomenon in which bacteria cannot grow but does not die in the presence of antibiotic. Bacteria responds to antibiotic by changing its gene expression to maintain survival. *Pseudomonas aeruginosa* is one of microorganisms that has high antibiotic tolerance properties which makes it very difficult to eradicate. This microorganism is a serious threat to immunocompromised patients and a major cause of nosocomial infection. Previous study demonstrated a new compound, autoinducer analog-1 (AIA-1), which enhance antibacterial activity of antibiotics without affecting antibiotic susceptibility. The mechanism of this compound in decreasing antibiotic tolerance remains to be explained. This study aims to investigate the mechanism of AIA-1 in decreasing antibiotic tolerance.

Materials and Methods

Transposon mutagenesis was done by conventional mating between wild type *Pseudomonas aeruginosa* (PAO1) and *Escherichia coli* S17-1 λ -pir harboring pUT-miniTn5pro. Killing assay was performed using Biapenem or combination of Biapenem and AIA-1. Mutants which exhibited high antibiotic tolerance were selected. Transposon insertion site were determined by sequencing and genes obtained from the transposon mutant screening were designated to be deleted. To construct deletion mutants, five hundred base pairs of upstream and downstream of gene target were amplified and aligned to pEX18Gm vector. Deletion mutants were obtained by mobilizing In-Fusion plasmid from *E. coli* S17-1 λ -pir to PAO1.

Results

In this study, more than 3700 transposon mutants were screened for high antibiotic tolerance properties. Six mutants were selected and six genes were identified from sequencing. Analysis was focused on one of transposon mutants, RP39, which had transposon insertion site on a gene that encodes conserved hypothetical protein. Deletion mutant of this gene were constructed and killing assay using Biapenem, Levofloxacin and combination of these antibiotics and AIA-1 was done. Δ RP39 exhibited high antibiotic tolerance despite the presence of antibiotics and AIA-1.

Conclusion

The new compound, AIA-1, may have the effect towards antibiotic tolerance by affecting gene that analyzed in this study. This gene has critical role in elucidating the mechanisms of AIA-1 in decreasing antibiotic tolerance of *Pseudomonas aeruginosa*.

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

1-P2-PM38 *Porphyromonas gingivalis* が産生するポリアミンのヒト歯肉上皮細胞のメタボロームと増殖への影響

○飯島 由羅, 久保庭雅恵, 坂中 哲人, 竹内 洋輝, 眞弓 昌大, 天野 敦雄

阪大 院歯 予防歯

【目的】 ポリアミン類(PA)は dysbiosis 及び歯周病重症度との関連が強く示唆されている。本研究では *P. gingivalis* の野生株及び PA 代謝関連遺伝子変異株を用い、不死化ヒト歯肉上皮細胞 (IHGE) の細胞内メタボロームと表現型に及ぼす影響を検討した。

【方法】 *P. gingivalis* ATCC 33277 (野生株) を IHGE に感染多重度 (MOI) = 10 で感染させ、0, 2, 6, 24 時間の時点で回収し網羅的メタボローム解析を実施した。次に PGN_0265 (スペルミジン産生酵素) 変異株を作製し、各菌株を IHGE に MOI = 10 で 24 時間感染させた場合の細胞増殖能を MTT アッセイで評価した。また、*P. gingivalis* 非感染条件下で、細胞培地中にスペルミジン (Spd)、スペルミン (Spm) を異なる濃度で添加した場合の IHGE 増殖能も同様に評価した。

【結果】 メタボローム解析結果より、*P. gingivalis* 野生株感染細胞内では感染後 6 時間の時点で Spd が増加から減少に転じた一方、Spd の代謝経路下流に位置する Spm、および N⁸-Acetyl-Spd (不活性型 Spd) については、感染後一貫して経時的増加が見られた。細胞増殖能は、*P. gingivalis* 野生株感染細胞で有意に低下したが ($p=0.029$)、PGN_0265 変異株感染細胞では非感染細胞と同等の増殖能を示した。ポリアミン不含培地と比較し、低濃度 (10 μ M) Spd もしくは Spm 含有培地では IHGE の増殖能が亢進した。一方、高濃度 (10 mM) Spd もしくは Spm 含有培地では増殖能が減退し、10 mM Spm で最も顕著に IHGE の増殖が阻害された ($p<0.0001$)。

【考察】 今回の結果において、高濃度 Spm により IHGE の細胞増殖が顕著に阻害されたことから、*P. gingivalis* は Spd を放出し Spm 産生を促進させることで、IHGE の PA ホメオスタシスのバランスを崩し、増殖を遅延させている可能性が示された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effects of polyamines produced by *Porphyromonas gingivalis* on the metabolome and proliferation capacity of human gingival epithelial cells

○Iijima Y, Kuboniwa M, Sakanaka A, Takeuchi H, Mayumi M, Amano A

Dept Prevent Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent

The purpose of this study was to investigate the effect of *P. gingivalis* infection on the intracellular metabolome profile and phenotype alteration of immortalized human gingival epithelial cells (IHGE). IHGE was infected with *P. gingivalis* ATCC 33277 at MOI=10 for 24 hours. The infected cells were collected at 2, 6, 24 hours and subjected to comprehensive metabolomic analysis. Their metabolome profiles were compared with that of the non-infected cells. To evaluate the influence of altered polyamine metabolism in the *P. gingivalis* infected cells, a spermidine-producing enzyme inactivated strain, Δ PGN_0265, was constructed. Proliferative capacity (PC) of IHGE infected by WT and Δ PGN_0265 was evaluated using MTT assay. PC of IHGE treated with various concentrations of spermidine (Spd) or spermine (Spm) was also evaluated. The metabolomic analysis showed that Spm and N⁸-Acetylspermidine, both are Spd metabolites, tended to increase in *P. gingivalis*-infected cells. Compared with non-infected IHGE, the PC of WT-infected cells was significantly suppressed, while Δ PGN_0265 infected ones restored the PC. In addition, the PC in the high concentration (10 mM) Spd- or Spm- treated IHGE was significantly decreased. These results indicate that *P. gingivalis* influences the proliferation of IHGE by destabilizing the intracellular polyamine metabolism.

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

1-P2-PM39 唾液を検体とした口腔健康状態評価法の開発

○滝口涼美麗^{1,2}, 桑田 啓貴², 森崎 弘史², 鈴木 規元¹, 逸見 百江²

¹昭大 歯 歯科保存 歯内治療, ²昭大 歯 口腔微生物

近年、常在細菌叢の構成異常、いわゆるディスバイオーシスが健康維持や疾患発症と密接に関与することが知られている。口腔においてもディスバイオーシスが歯周病などの口腔疾患等と密接に関わることが明らかにされつつある。菌叢変化を調べる手法としては、通常、次世代シーケンサーが用いられるが、コストやデータ解析などが課題となっている。口腔免疫系は口腔細菌叢と密接に相互作用しており、特に唾液抗体は口腔細菌を標的とし、特異的に産生・誘導されると考えられる。今回、我々はこの唾液抗体(sIgA および IgG)と口腔細菌の結合を定量的・定性的に調べることで、ディスバイオーシスを調べるより簡便な検査方法の開発を目指した。まず、*Streptococcus mutans* や *S. oralis* などの口腔細菌の LPXTG モチーフを有する菌体表層タンパク質のリコンビナントタンパク質を作成し、ウサギ免疫することでポリクロナール抗体を作製した。続いて、得られた抗体を共有結合により蛍光色素で標識し、検出抗体を作製した。最後に、純培養した口腔細菌を検出抗体と反応させ、各細菌と特異的に結合するかを、フローサイトメトリー(FCS)を用いて調べた。その結果、口腔細菌検出抗体との特異的な結合が確認された。また、ヒト被験者の唾液検体遠心分離により得た細菌サンプルに、検出抗体および抗ヒト IgA 抗体や抗ヒト IgG 抗体と反応させ、同様に FCM により解析したところ、被験者の年齢や口腔衛生状態などによって、異なるプロファイルが得られた。以上のことから、口腔細菌に対して結合する抗体の量や種類の変化が口腔細菌叢異常を評価する指標となる可能性が示唆された。最終的には抗体を使用したディスバイオーシスの評価法のためのプロトコル確立を目指す。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Development of oral health assesment using saliva

○Takiguchi S^{1,2}, Kuwata H², Morisaki H², Suzuki N¹, Itsumi M²

¹Div Endodont Dept Conserv Dent Sch Dent, Showa Univ, ²Dept Microbiol Immunol, Showa Univ Sch Dent

It has been known that dysbiosis, an alteration in the composition of the commensal microflora, is closely related to the pathogenesis of diseases, including oral disease. Next-generation sequencer is an issue due to the cost. The salivary antibodies are thought to be specifically induced against oral bacteria. Thus, we aimed to develop a simpler method to detect dysbiosis by examining the binding of antibodies contained in saliva. First, we generated polyclonal antibodies by immunizing rabbits with recombinant proteins against bacterial LPXTG-motif protein from several bacteria such as *Streptococcus mutans*. Detection antibodies were covalently labeled with fluorescent dyes. After oral bacteria in pure culture were incubated with the detection antibodies, and their specificities were checked using flow cytometry (FCM). As a result, it was confirmed that the detection antibodies bind to oral bacteria specifically. Therefore, bacteria from human saliva were reacted with detection antibodies and saliva antibodies and then analyzed by FCM. It is shown that the different profiles were obtained depending on the age and oral hygiene status of the subjects. These results suggest that changes in antibodies that bind to oral bacteria may be an indicator for evaluating oral dysbiosis.

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

1-P2-PM40 インターフェロン誘導性ケモカイン CXCL9, CXCL10, CXCL11 のマウス扁平上皮癌細胞に対する抗腫瘍作用の違い

○松本 安吏^{1,2}, 森 一将¹, 廣井 美紀², 大森 喜弘²

¹明海大 歯 口腔顎顔面外科, ²明海大 歯 微生物

【目的】 インターフェロン (IFN) 誘導性ケモカイン CXCL9, CXCL10, CXCL11 は抗腫瘍性ケモカインとして知られているが, 腫瘍の発生母地の違いにより腫瘍の増殖, 進展にも関与していることが報告されている. しかし口腔扁平上皮癌における IFN 誘導性ケモカインの役割については十分には明らかにされていない. そこで今回演者らは上記3種のケモカインの抗腫瘍作用の違いについて検討した. 【材料および方法】 マウス扁平上皮癌細胞株 (SCCVII) にケモカイン発現ベクターを導入し, ケモカイン安定発現細胞株を作製しヌードマウス背部へ移植した. 経時的に腫瘍の大きさを測定し, 3週間後に屠殺し腫瘍形成に及ぼすこれらケモカインの役割について血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) 及び NK 細胞マーカーである NK1.1 (CD161) の発現について免疫組織化学的染色を行い検討した. 【結果】 1) CXCL9, CXCL11 では顕著な腫瘍増殖の抑制が認められたが, CXCL10 では抑制作用は認められなかった. 2) VEGF の発現は, CXCL9, CXCL11 では empty vector (Vector) 導入細胞に比較し有意な減少を認めた. 一方で, CXCL10 では有意な発現増加を認めた. 3) NK1.1 は CXCL9, CXCL11 で発現増強が認められたが, CXCL10 では Vector と同程度の発現しか認められなかった. 【考察】 CXCL9, CXCL11 は NK 細胞による細胞傷害作用, および VEGF 発現抑制による血管内皮細胞の増殖抑制作用により腫瘍の増殖を抑制したものと考えられる. 一方, CXCL10 では, 抗腫瘍作用が認められなかった. これらのケモカインの抗腫瘍作用の違いは, 腫瘍組織で産生されるケモカインのペプチド鎖を切断する酵素である dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) の関与が考えられ, 今後はその可能性について検討を行う予定である.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Differential antitumor effects of IFN-inducible chemokines CXCL9, CXCL10 and CXCL11 on mouse squamous cell carcinoma

○Matsumoto A^{1,2}, Mori K¹, Hiroi M², Ohmori Y²

¹Div Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch Dent, ²Div Microbiol, Meikai Univ Sch Dent

The interferon (IFN)-inducible chemokines CXCL9, CXCL10, and CXCL11 are antitumor chemokines that are reportedly involved in tumor growth and progression at different tumorigenesis sites. However, the role of IFN-inducible chemokines in oral squamous cell carcinoma has not been fully elucidated. Here, we investigated the differences in the antitumor effects of these IFN-inducible chemokines. We established murine squamous cell carcinoma cell (SCCVII) lines stably expressing the chemokines and used these for transplantation into the back of nude mice. Tumor size was monitored, and the mice were sacrificed 3 weeks later to investigate vascular endothelial growth factor (VEGF) and NK1.1 (CD161) expression by immunohistochemical staining. CXCL9 and CXCL11 cells markedly inhibited tumor growth, while CXCL10 cells did not. VEGF expression was significantly decreased in CXCL9 and CXCL11 cells. NK1.1 expression was enhanced in CXCL9 and CXCL11 cells, while CXCL10 cells showed only modest expression. These results indicate that CXCL9 and CXCL11 inhibit tumor growth through cytotoxic action by NK cells and inhibition of VEGF expression. Conversely, no antitumor effect was observed for CXCL10. The differential antitumor effects of these chemokines may be due to the involvement of dipeptidyl peptidase 4 (DPP4), which cleaves the peptide chains of chemokines produced in tumor tissues.

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

1-P2-PM41 歯周病の発症における EBV 関与の可能性 – 慢性歯周病患者唾液中の酪酸は EBV の再活性化を誘導する –

○渡辺 典久^{1,2}, 横江 将^{1,2}, 佐藤 秀一¹, 今井 健一²

¹日大 歯 保存 III, ²日大 歯 細菌

【目的】近年, EBV が歯周病や潰瘍性大腸炎等の炎症性疾患の発症に深く関与するとの興味深い報告が世界各国から蓄積している. 歯周病の発症と進行に関しては, 細菌の関与は必須であると考えられるものの, 主な原因は宿主側にあり特に免疫機能の低下が重要との考えが広く認識されるようになった. そこで, 宿主に感染し免疫機能の低下を引き起こす EBV の役割が注目されている. 我々は, EBV が歯肉の B 細胞に感染していること, EBV LMP1 がサイトカインを誘導する事 (本学会発表), さらに P. g や F. n の培養液中に含まれる酪酸が EBV を再活性化することを報告してきた. しかし, なぜ歯周病患者では EBV が多く検出されるのか, 即ち歯周病患者の生体内において EBV の再活性化がどのように誘導されるのかは不明である. そこで, 歯周病患者の唾液が EBV を再活性化するのではないかと推察し実験を行った. 【方法と結果】唾液中の短鎖脂肪酸を測定した結果, 歯周病患者唾液中には酪酸, プロピオン酸及び酢酸が高濃度で存在し, その値は健常者と比較して優位に高かった. EBV 潜伏感染細胞に歯周病患者の唾液を添加した結果, EBV の再活性化因子 BZLF1 の発現とヒストンのアセチル化が誘導されると共に, BZLF1 発現量と唾液中の酪酸濃度との間のみ有意な相関関係があることが認められた. 【考察】歯周病患者の唾液中の酪酸は, エピジェネティック制御を介して EBV を再活性化する可能性があることが解った. 歯周病が EBV 再活性化のリスク因子となり得ることが推察され, EBV が関与する歯周病等の疾患の発症機序の解明とその予防法の開発に繋がる可能性が示唆された.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

Butyric acid in saliva of chronic periodontitis patients induces reactivation of EBV

○Watanabe N^{1,2}, Yokoe S^{1,2}, Sato S¹, Imai K²

¹Dept Periodont, Nihon Univ Sch Dent, ²Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent

Background/Aim: Epstein-Barr virus (EBV) associates with human chronic periodontitis (CP) progression. We previously demonstrated that butyric acid (BA) produced by periodontopathic bacteria induced EBV lytic switch activator BZLF1 expression. We investigated whether short chain fatty acids (SCFAs) in CP patients' saliva enabled EBV reactivation. Materials and Methods:Saliva was collected from seven CP patients and five periodontally healthy individuals. SCFAs were quantified using HPLC. BZLF1 mRNA and its pertinent protein ZEBRA were determined with Real-time PCR and western blotting. Histone H3 acetylation (ACh3) was further determined. Results:BZLF1 mRNA expression and transcriptional activity in EBV-infected Daudi cells were induced only when treated with the CP saliva. Among SCFAs, BA alone correlated significantly with the BZLF1 transcription. As expected, CP patients' saliva induced ACh3. Conclusion:BA in saliva may play a role in EBV reactivation and hence contribute to EBV-related disease progression in CP patients.

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

1-P2-PM42 血清飢餓状態が頭頸部癌細胞株に及ぼす影響と飢餓誘導遺伝子の予後との関連性

○西山今日子¹, 稲葉 裕明², 濱田 正和¹, 吉田 翔², 仲野 道代²

¹阪大 院歯 口外², ²岡大 院医歯薬 小児歯

オートファジー関連遺伝子 (ARG) は、悪性腫瘍の発生や進行に関与していると考えられている。ARG を含む遺伝子の発現動態を調べるために、まず頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC) 細胞を無血清条件下に培養した。無血清条件下において、HNSCC 細胞株の細胞増殖抑制、細胞遊走能抑制とオートファジーが誘導された。その後、これらの飢餓状態にある HNSCC 細胞株のトランスクリプトーム解析を行った。その結果、細胞増殖、遊走、オートファジー、生存に関連する各シグナル伝達経路に位置する 21 の飢餓誘導遺伝子 (SIG) のうち、顕著な発現の上昇または低下を示す SIG を特定した。具体的には、ARG2, BST2, CALR, CD22, DDIT3, FOXA2, HSPA5, PIWIL4, PYCR1, SGK3, TRIB3 などが挙げられる。HNSCC 患者の Cancer Genome Atlas (TCGA) データベースを用いて、上昇した遺伝子の発現を調べたところ、CALR, HSPA5, TRIB3 は、癌組織では正常組織と比較して高発現しており、これらの遺伝子の高発現患者では生存率が低下することが明らかとなった。タンパク質-タンパク質相互作用解析において、これらの遺伝子が緻密なネットワークを形成していることが示された。Cox 回帰分析では、TCGA データベース中の頭頸部癌患者において、CALR, HSPA5, TRIB3 の発現の高さが生命予後の悪さと関連していることが明らかになった。したがって、血清飢餓条件下で発現量が上昇するこれらの SIG は、頭頸部癌患者の生命予後予測マーカーとなる可能性があると考えられた。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effect of serum starvation on head and neck cancer cell lines and prognostic association of starvation-induced genes

○Nishiyama K¹, Inaba H², Hamada M¹, Yoshida S², Matsumoto-Nakano M²

¹Dept Oral Surg 2, Osaka Univ Grad Sch Dent, ²Dept Pediatr, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

Autophagy-related genes (ARGs) have been implicated in the initiation and progression of malignant tumor promotion. To investigate the expression dynamics of ARG-containing genes, head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) cells were first cultured under serum-free conditions. Under serum-free conditions, the HNSCC cell lines were induced to growth retardation, inhibition of migratory activity, and autophagy. Then, transcriptome analysis of these starved cells was performed. Among the 21 starvation-induced genes (SIGs) located in the cell proliferation, migration, autophagy, and survival signaling pathways, we identified SIGs that showed prominent up-regulation or down-regulation. These included AGR2, BST2, CALR, CD22, DDIT3, FOXA2, HSPA5, PIWIL4, PYCR1, SGK3, and TRIB3. The Cancer Genome Atlas (TCGA) database of HNSCC patients was used to examine the expression of up-regulated genes, and CALR, HSPA5, and TRIB3 were highly expressed relative to solid normal tissue in cancer and the survival rate was found to be reduced in patients with high expression. Protein-protein interaction analysis demonstrated the formation of a dense network of these genes. Cox regression analysis revealed that high expression of CALR, HSPA5, and TRIB3 was associated with poor prognosis in patients with TCGA-HNSCC. Therefore, these SIGs up-regulated under serum starvation may be molecular prognostic markers in HNSCC patients.

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

1-P2-PM43 β -glucan による破骨細胞における NFATc1 の発現抑制の分子メカニズムの解明

○古賀 絢雅^{1,2}, 吉岡 香絵², 山崎 亮太², 藤井 航¹, 有吉 渉²

¹九歯大 口腔保健, ²九歯大 感染分子生物

β -glucan を認識するレクチン受容体である dectin-1 は破骨細胞前駆細胞に特異的に発現している。先行研究において β -glucan の 1 つである curdlan が破骨細胞の分化のマスター因子である NFATc1 の発現を抑制し、破骨細胞の分化を阻害するという結果を見出している。そこで curdlan による NFATc1 発現抑制の分子機構について 1. NFATc1 のネガティブレギュレーター発現修飾, 2. NF- κ B 経路の活性化修飾の 2 点に着目し検討した。NFATc1 の発現は、ネガティブレギュレーターを抑制する Blimp-1 によって調節される。破骨細胞前駆細胞株 RAW264.7 細胞の β -glucan 認識レクチン受容体である dectin-1 受容体過剰発現株 d-RAW 細胞を用いた RT-PCR 結果では、破骨細胞分化誘導因子である RANKL による NFATc1 の発現は curdlan により抑制される一方、Blimp-1 の発現に対する影響は観察されなかった。このことから、curdlan による NFATc1 の発現抑制に Blimp-1 は関与しないことが示唆された。次に、NF- κ B 経路の活性化に対する curdlan の効果を調べた。NF- κ B は、RANKL による NFATc1 の初期誘導に重要な役割を果たしている。NF- κ B は定常状態では抑制因子である I κ B α と結合し、細胞質に存在しているが、RANKL 刺激によって I κ B α が活性化し分解すると、核内へ移行し、NFATc1 の転写を促進する。Western blotting の結果、d-RAW 細胞では NF- κ B p65 の核内移行が curdlan により抑制されていた。この抑制効果が dectin-1 依存的か評価するために、vector control 細胞 (c-RAW 細胞) を用いて d-RAW 細胞と比較したところ、c-RAW 細胞でも p65 の核内移行が抑制され、I κ B α の分解も抑制されていた。これらのことから、curdlan による NF- κ B 活性化経路の抑制は dectin-1 受容体非依存的であると推測した。 β -glucan の受容体としては dectin-1 以外に CD11b や TLR2 が報告されている。現在、curdlan による NF- κ B 活性化の抑制に関わる dectin-1 以外の受容体の同定を行っている。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Molecular mechanism of beta-glucan-induced suppression of NFATc1 expression in osteoclasts

○Koga A^{1,2}, Yoshioka Y², Yamasaki R², Fujii W¹, Ariyoshi W²

¹Sch Oral Health Sci, Kyushu Dent Univ, ²Div Infect Mol Biol Dept Health Promot, Kyushu Dent Univ

In a previous study, we found that curdlan, a beta-glucan, inhibits osteoclast differentiation by suppressing the expression of NFATc1, via binding to dectin-1 receptor. In this study, we investigated the molecular mechanisms of curdlan-mediated suppression of NFATc1 by focusing (1) the expression of negative regulators of NFATc1, and (2) the activation of the NF- κ B signaling pathway. Results of real-time PCR analysis using a dectin-1 receptor-overexpressing osteoclast progenitor cell line RAW264.7 (d-RAW cells), suggested that Blimp-1 is not involved in the repression of NFATc1 by curdlan. We next examined the effect of curdlan on the activation of the NF- κ B pathway. Western blotting analysis revealed that the RANKL-induced nuclear translocation of NF- κ B p65 in d-RAW cells was inhibited by curdlan. Surprisingly, the suppression of this nuclear translocation by curdlan was observed in vector control cells (c-RAW cells) as well as in d-RAW cells. Furthermore, RANKL-induced degradation of I κ B α protein was also recovered by curdlan. Based on these results, we speculated that curdlan may act on I κ B α and its upstream molecules in a dectin-1-independent manner. We are now trying to identify principal beta-glucan receptors involved in the inhibitory effect of curdlan on RANKL-induced osteoclastogenesis.

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

1-P2-PM44 なぜ口腔細菌の誤嚥で肺炎が悪化するのか？—歯周病原菌による MUC5AC 発現とムチン産生の誘導—

○横江 将¹, 渡辺 典久^{1,2}, 佐藤 秀一¹, 今井 健一²

¹日大 歯, ²日大 歯 細菌

【背景及び目的】近年, 周術期口腔機能管理の重要性が高まり, 医科歯科連携による口腔ケアが広く行われている. 特に有病者においては, 術後の摂食嚥下機能の低下により口腔細菌を含んだ唾液や食物残渣を誤嚥する機会が多く, 誤嚥性肺炎発症のリスクも高い. しかし, 口腔細菌がどのように肺炎の発症に関与しているのか, なぜ肺炎の予防に口腔ケアが有効なのかは解っていない. 呼吸器におけるムチンの過剰産生は喀痰過多の原因となるのみならず, 気管支の狭窄をもたらすことから呼吸機能の低下に繋がる. そこで今回, 口腔細菌がムチンのコア蛋白である MUC5AC の発現を誘導するのではないかと考え本研究を企画した. **【方法と結果】***P. gingivalis* (*P. g.*) 培養上清は呼吸器上皮細胞株において濃度依存的に MUC5AC の発現を誘導した. 本作用は, *P. g.* の病原因子 (LPS と線毛) では認められなかったことから 2 種類のジンジパイン (*Kgp* と *Rgp*) に着目した. ジンジパイン欠損株を用いた実験から, *P. g.* による MUC5AC の発現には特に *Rgp* が深く関与していることが明らかとなった. 同様の結果は, プライマリー気管支上皮細胞を用いた実験においても認められた. さらに, マウスに *P. g.* 培養上清を誤嚥させた結果, マウス肺においても MUC5AC の発現とムチンの産生が *P. g.* により強く誘導された. **【考察】**我々はこれまでに, 歯周病原菌が肺炎球菌等の受容体と炎症性サイトカインを誘導することを見出しているが, 今回新たに, *P. g.* がジンジパインを介して MUC5AC の発現を誘導し, ムチンの過剰産生を引き起こすことにより呼吸機能の低下に関与していることが示唆された.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

Porphyromonas gingivalis gingipains potentially affects MUC5AC gene expression and protein levels in respiratory epithelial cells

○Yokoe S¹, Watanabe N^{1,2}, Sato S¹, Imai K²

¹Nihon Univ Sch Dent, ²Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent

Introduction: It has long been established that periodontal diseases contribute to a particular set of pulmonary diseases, such as pneumonia and COPD. However, a causal relationship between periodontopathic bacteria and the onset of pneumonia and COPD has not yet been established. Under pulmonary disease conditions, mucus hypersecretion occurs, potentially contributing to disease pathology and mortality. In addition, of the numerous mucins found in airway epithelial cells, MUC5AC and MUC5B comprise approximately 90% of overall mucin content and more importantly, MUC5AC expression and protein levels are elevated in pneumonia and COPD patients. Therefore, *P. gingivalis* (*Pg*) may influence both MUC5AC expression and protein levels in airway epithelial cells, potentially contributing to the aggravation of pneumonia and COPD. **Result:** MUC5AC gene expression and protein levels are affected by *Pg* culture supernatant, but not by lipopolysaccharide or FimA fimbriae. Cells treated with either *Pg* single (*Kgp* or *Rgp*) or double (*Kgp/Rgp*) mutants had altered levels of MUC5AC gene expression and protein levels, and MUC5AC staining of double mutant-treated mouse lung cells showed that MUC5AC protein levels were unaffected. **Conclusion:** *Pg* gingipains may be the primary virulence factor that influences both MUC5AC gene expression and protein levels, potentially contributing to pneumonia and COPD aggravation.

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

1-P2-PS01 3次元培養システムを用いた口腔癌の薬剤応答性に対する新規 *in vitro* モデルの検証

○佐藤 晃平¹, 小野 喜章², 河合 穂高³, 中野 敬介³, 長塚 仁³, 佐々木 朗²

¹岡大 歯, ²岡大 院医歯薬 口腔顎顔面外科, ³岡大 院医歯薬 口腔病理

癌研究における医薬品開発では創薬スクリーニング試験の一環として、培養細胞を用いた試験が行われている。しかし従来の単層培養法は生体内の本来の状態と比較すると、複雑な腫瘍環境を反映できないことが課題である。一方で、近年 *in vivo* の生理学的環境により近く、従来よりも優れたモデルとして3次元培養法が注目されている。3次元培養は腫瘍組織と類似した生育環境を模倣することができ、薬剤処理に対する生体応答の予測などが可能とされている。本研究では口腔癌細胞を用いた3次元培養法の確立を目指し、その実用性検証のため、抗癌剤を用いた口腔癌の薬剤応答性を調査した。【方法・結果】ヒト口腔癌細胞株 SAS と HSC-3 を用いて3次元培養を行ったところ、球状の細胞塊（スフェロイド）を形成した。スフェロイド溶解液を用いたウエスタンブロット法により、細胞接着分子 E-cadherin と Claudin-1 の経時的な増強を認めた。回収したスフェロイドのパラフィン切片を作製、H-E 染色を行ったところ、各細胞株特有の分化傾向を示し、いずれも顕著な管腔構造を認めていた。また中心部に壊死領域を認め、細胞増殖マーカー Ki-67 を用いた免疫染色法によりスフェロイド辺縁部にて多数の Ki-67 陽性細胞を認めた。シスプラチンおよびセツキシマブを各スフェロイドに作用したところ、両細胞ともシスプラチン作用群では濃度依存的に細胞接着の喪失・スフェロイド崩壊による抗腫瘍効果を認めたが、セツキシマブ作用群では各細胞株の EGFR 発現と相関的に抗腫瘍効果を示した。【結論】口腔癌細胞株を用いたスフェロイドは、臨床組織像と類似した構造・特性を有していた。今回用いた抗癌剤2剤の結果の違いは臨床的意義を反映している可能性があると考えられた。将来的に口腔癌患者の組織検体から腫瘍スフェロイドを作製し、固有の機能性を維持した状態で薬剤スクリーニングへの応用や個別診断・治療法の開発へと進展していける可能性がある。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

A novel 3-dimensional culture system as an *in vitro* model for drug responsiveness of oral cancer

○Sato K¹, Ono K², Kawai H³, Kakano K³, Nagatsuka H³, Sasaki A²

¹Okayama Univ, Dent Sch, ²Dept Oral Maxillofac Surg Biopathol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ³Dept Oral Pathol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

In drug development of cancer research, tests using cultured cells have been conducted as part of drug discovery screening. However, the problem with conventional monolayer culture method doesn't reflect a complicated tumor environment compared with *in vivo*. Recently, the 3-dimensional (3D) culture method has been garnering attention as a better model since it is similar to the *in vivo* environment. The 3D culture can accurately reflect the original growth environment of a complicated tumor tissue, and it is possible to predict the biological response to drug treatment. In this study, we aimed to establish a 3D culture method using oral cancer (OC) cells, and verified its practicality by examining the drug susceptibility of OC with anticancer drugs. As a result, the spheroids composed of the OC cell lines had structures similar to the clinical histology. In addition, it was considered that differences in antitumor effects between the two anticancer agents used this study may imitate the clinical significance. In the future, by producing tumor spheroids from tissue specimens of OC patients, it may be possible to expect application to drug screening and development of individual diagnosis / treatment methods while maintaining unique properties of each tumor.

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

1-P2-PS02 口腔扁平上皮癌における CKAP4 発現および機能解析

○工藤 広大^{1,2}, 片瀬 直樹², 藤田 修一²

¹長大 歯, ²長大 院医歯薬 口腔病理

【目的】 DKK3 は口腔扁平上皮癌 (OSCC) において Akt を活性化して腫瘍細胞の増殖, 遊走を増加させることから, DKK3 またはその受容体を標的とした腫瘍制御が期待される. 近年 CKAP4 が DKK3 の受容体として報告されたが, その OSCC での発現と意義は不明である. 本研究では組織における CKAP4 発現と抗 DKK3 抗体, 抗 CKAP4 抗体が腫瘍細胞に及ぼす影響を検討した. **【方法】** 長崎大学病院の OSCC 手術検体 100 例を用いて CKAP4 の免疫染色を行い, 発現の有無と臨床データ及び予後との相関を検討した. また, HSC-3 細胞に rhDKK3 を加えて分泌型 DKK3 の過剰産生を再現し, 抗 DKK3 抗体または抗 CKAP4 抗体による細胞増殖と遊走への影響を評価した. **【結果】** CKAP4 発現は腫瘍細胞の細胞質に認められた. CKAP4 陽性群 (N=73) は陰性群 (N=27) に比較して T stage, TNM stage が有意に高く, 無疾患生存率が有意に短かった. 細胞での検討では, rhDKK3 は HSC-3 細胞の細胞増殖と遊走を有意に増加させた. 抗 DKK3 抗体, 抗 CKAP4 抗体は細胞増殖を有意に低下させ, かつ rhDKK3 による増殖増強効果も打ち消した. 抗 DKK3 抗体は遊走を抑制できず, rhDKK3 による遊走増強効果も打ち消すことができなかったが, 抗 CKAP4 抗体はそのいずれも有意に抑制した. **【考察】** CKAP4 発現群は有意にステージが高いことから, CKAP4 発現は OSCC における予後不良因子であると考えられた. rhDKK3 は腫瘍細胞の増殖と遊走を有意に増大させ, 抗 DKK3 抗体, 抗 CKAP4 抗体はいずれもその効果を減弱させたが, その抑制効果は抗 CKAP4 抗体がより高かった. 以上から, DKK3/CKAP4 axis は OSCC 腫瘍制御の重要なターゲットであると考えられる.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Expression and functional analyses on CKAP4 in oral squamous cell carcinoma

○Kudo K^{1,2}, Katase N², Fujita S²

¹Nagasaki Univ Dent Sch, ²Dept Oral Pathol Bone Metab, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Objectives: DKK3 activates tumor cells proliferation and migration via Akt phosphorylation in oral squamous cell carcinoma (OSCC), and it is expected that DKK3 or its receptor would be therapeutic target. Recently, CKAP4 was identified as a receptor for DKK3, but its significance in OSCC is unknown. In this study, we investigated the expression of CKAP4 in OSCC tissue, and the effects of anti-DKK3 or anti-CKAP4 antibody in OSCC cells. **Methods:** Immunohistochemistry for CKAP4 was performed and the correlation between its expression and clinical data was investigated. And we reproduced DKK3 over-expression by rhDKK3, and the effect of anti-DKK3 or anti-CKAP4 antibody was evaluated. **Results:** CKAP4 positive cases (N=73) showed significantly advanced T-stage, TNM stage and shorter disease-free survival. CKAP4 (-) cases tended to show more favorable prognosis. rhDKK3 significantly increased cell proliferation and migration of HSC-3 cells. Both anti-DKK3 and anti-CKAP4 antibody significantly reduced cell proliferation and canceled the effects of rhDKK3. The anti-DKK3 antibody could not suppress migration or cancel the effect of rhDKK3, while the anti-CKAP4 antibody significantly suppressed all of them. **Conclusion:** All the data suggest that CKAP4 may be the prognostic marker of OSCC, and that DKK3/CKAP4 axis may be a promising target for OSCC control.

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

1-P2-PS03 アルツハイマー病モデルマウスの中脳路核でみられたアミロイド β とリン酸化タウの沈着と、その咀嚼機能への影響

○北脇 綾乃¹, 倉本恵梨子¹, 齋藤 充², 山中 淳之¹, 岩井 治樹¹, 後藤 哲哉¹

¹鹿大 院医歯 機能形態, ²鹿大 院医歯 口腔生理

【目的】アルツハイマー病(AD)では、海馬や大脳皮質においてアミロイド β (A β)の沈着や、神経原線維変化が生じることが知られている。また、早期の段階から脳幹においてもAD病理が生じる例が報告されている。脳幹には咀嚼運動に重要な三叉神経中脳路核・運動核が存在する。これらの神経核でADの神経病理を解析するとともに、AD病理が咀嚼運動に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。【方法】本研究では3xTg-ADマウス(雄性)を用いて三叉神経核群におけるAD病理を免疫組織化学的に解析した。さらにAD病理が咀嚼機能に与える影響を電気生理学的に解析するため、新規に開発した咬合力測定装置を用い、咬合力と咬筋筋電図を同時に記録した。この装置を用いて、3xTg-ADマウスとC57BL/6Jマウス(対照群)について、咬筋の筋活動量と咬合力を比較検討した。【結果】免疫組織化学的解析では、3xTg-ADマウスの三叉神経中脳路核において、8週齢でA β の沈着が観察され、24週齢では三叉神経中脳路核から三叉神経運動核へと投射する軸索においてリン酸化タウの免疫反応が確認された。また、筋電図と咬合力の同時測定を行うと、3xTg-ADマウスではコントロールのC57BL/6Jマウスと比較して最大咬合力が有意に低下していた。さらにマウスのヒマワリの種の咀嚼時の咬筋の筋活動量から咬合力を推定すると、12~16週齢で3xTg-ADマウスではC57BL/6Jマウスと比較して、咬合力が有意に低下していた($p < 0.05$)。また、咀嚼リズムに関してもC57BL/6Jマウスに比べて有意に遅延していた($p < 0.05$)。一方で咬筋全体の重量、および筋線維の断面積に有意差は見られなかった。【考察】3xTg-ADマウスにおいて見られた咀嚼機能の低下は、咬筋の組織学的な変化によるものではなく、三叉神経中脳路核に生じたAD病理によって神経機能が障害された結果、咀嚼機能の低下が引き起こされた可能性が示された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Neuropathology in the mesencephalic trigeminal nucleus of Alzheimer's disease model mice and its effects on masticatory function

○Kitawaki A¹, Kuramoto E¹, Saito M², Yamanaka A¹, Iwawi H¹, Goto T¹

¹Dept Anat Oral Sci, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Dept Oral Physiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

Amyloid- β deposition and neurofibrillary tangle in the cortex are a hallmark of Alzheimer's disease (AD). In some cases, AD pathology also occurs in the brainstem at an early stage. By using AD model mice (3xTg-AD, male), we immunohistochemically examined AD pathology in the mesencephalic trigeminal nucleus (Vmes), which is important for mastication, and electrophysiologically analyzed whether the neuropathology affects mastication. Amyloid- β -immunopositive cells were found in the Vmes of 8-weeks-old 3xTg-AD mice, and immunoreactivity of phosphorylated tau was observed in axons projecting from the Vmes to the trigeminal motor nucleus at 24-weeks-old. To investigate whether AD pathologies affect mastication, we developed a device, which can measure occlusal force and electromyogram simultaneously. We found that muscle activity of masseter was strongly correlated with occlusal force, making it possible to estimate occlusal force from muscle activity. We found that, occlusal force and frequency of masticatory cycle were significantly decreased in 3xTg-AD mice, in comparison with the control C57BL/6J mice. However, there were neither significant differences in the weight of masseter nor the cross-sectional area of its muscle fibers. These results suggest that the AD pathology of the Vmes might affect its neuronal function and lead to the decreased masticatory function in 3xTg-AD mice.

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

1-P2-PS04 (取り下げ／**withdrawn**)

1-P2-PS05 高骨代謝回転状態による podoplanin/PHOSPHO1 陽性骨芽細胞の局在変化

○中嶋 悠斐^{1,2}, 山本知真也^{2,3}, 本郷 裕美², Nasoori Alireza², 網塚 憲生², 長谷川智香²

¹北大 歯 5年, ²北大 院歯 硬組織発生, ³陸自 真駒内

骨芽細胞は、骨基質形成や石灰化を営む一方、骨基質に埋め込まれて骨細胞へ分化する。しかしながら、骨基質形成・石灰化と骨細胞分化のタイミングがどのように調節されているかについては、未だ不明な点が多い。我々は、正常状態の骨組織において、骨芽細胞による骨基質石灰化と骨細胞分化が同時に生じるのか、また、骨代謝回転が上昇した場合、骨芽細胞の石灰化基質合成と骨細胞分化のタイミングが、正常状態と同様に生じるのかを明らかにする目的で、高骨代謝回転状態を呈する PTH 間歇投与マウスを作成し、これらマウスの大腿骨を組織学的に解析した。その結果、正常マウスでは、骨基質石灰化を行う PHOSPHO1 陽性骨芽細胞と、骨細胞に分化しつつある podoplanin 陽性骨芽細胞の局在が一致せず、骨芽細胞による骨基質石灰化と骨細胞分化は異なるタイミングで生じていることが示唆された。一方、PTH 間歇投与マウスでは、多くの骨芽細胞が PHOSPHO1 と podoplanin の陽性反応を示していた。詳細に観察すると、モデリングが生じる一次骨梁の領域では、骨芽細胞の基質石灰化と骨細胞分化は一致しなかったが、二次骨梁の骨リモデリングが生じる領域では、骨芽細胞の基質石灰化と骨細胞分化が一致していた。以上から、PTH 間歇投与により高骨代謝回転状態を惹起すると、骨芽細胞による骨基質石灰化と骨細胞分化が促進するとともに、二次骨梁の骨芽細胞における骨基質石灰化と骨細胞分化が同時に誘導される可能性が推測された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Altered distribution of podoplanin-reactive/PHOSPHO1-positive osteoblasts in murine femora with the high bone turnover

○Nakajima Y^{1,2}, Yamamoto T^{2,3}, Hongo H², Nasoori A², Amizuka N², Hasegawa T²

¹Sch Dent Med Hokkaido Univ, ²Dept Deve Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ³JGSDF Camp Makomanai

Osteoblasts are known to synthesize the bone matrix, in which they gradually become embedded to differentiate into osteocytes. In this study, we have attempted to clarify the issues; 1) whether osteoblasts' differentiation into osteocytes takes place simultaneously with osteoblastic bone mineralization in a normal state, and 2) whether the distribution pattern of PHOSPHO1-positive bone-mineralizing osteoblasts and podoplanin-positive osteoblasts ready to differentiate into osteocytes are changed in a high bone turnover driven by parathyroid hormone (PTH). In order to verify the issues, we have histochemically examined the murine femoral metaphyses received vehicle or human PTH. As a result, the distribution of podoplanin-positive osteoblasts and PHOSPHO1-reactive osteoblasts is not co-localized in the control mice. In contrast, many podoplanin-positive osteoblasts and PHOSPHO1-reactive osteoblasts were observed in the PTH administered bone, implicating accelerated osteoblast differentiation into osteocytes and osteoblastic bone mineralization. Furthermore, double staining of PHOSPHO1 and podoplanin clearly demonstrated the co-localization of PHOSPHO1-positive and podoplanin-reactive osteoblasts in the PTH-administered secondary trabeculae but not the primary trabeculae. Thus, intermittent PTH administration appears to stimulate osteoblasts' bone mineralization and their differentiation into osteocytes, inducing synchronous bone mineralization and osteocytic differentiation in the secondary trabeculae.

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

1-P2-PS06 *Porphyromonas gingivalis* はマクロファージの細胞外小胞を介して胎盤・胎児の成長発育を阻害する

○棚井あいら¹, 福原 瑤子¹, 江口 傑徳², 河合 穂高³, 池亀 美華¹, 岡村 裕彦¹

¹岡大 院医歯薬 口腔形態, ²岡大 院医歯薬 歯科薬理, ³岡大 院医歯薬 口腔病理

歯周病は *Porphyromonas gingivalis* (Pg 菌) を主とする歯周病原菌により惹起される慢性炎症である。近年, Pg 菌が胎児の成長障害に関与することがわかってきたが, その詳しいメカニズムは明らかでない。本研究では, Pg 菌がマクロファージ由来の小胞 (Mφ EVs) を介して胎盤・胎児の成長を阻害するか検討を行った。培養単球細胞 (THP-1) を PMA で Mφ に分化させた後, Pg 菌を 4 時間作用させ, 抗菌剤処理により, 細胞外の Pg 菌を除去した。エクソソーム不含培地でさらに 48 時間培養し, 上清中から Pg 菌感染 Mφ EVs (Pg-inf Mφ EVs) を回収した。Pg-inf Mφ EVs を妊娠マウスに尾静脈内投与した。蛍光標識した Pg-inf Mφ EVs とバイオイメーキングシステムを用いて生体内の動態を解析した。胎盤・胎児は質量分析, プロテオーム解析と細胞組織学的手法等により解析した。Pg-inf Mφ EVs 投与群の胎盤・胎児は著しく阻害された。Pg-inf Mφ EVs の組織への集積量は形成障害の程度に関連性がみられた。投与群の胎盤では血管や血管関連因子が抑制された。また, 投与群の胎児の骨格標本作製し, alcian blue 染色と alizarin red 染色を行ったところ, 骨格形成や骨化度の遅延がみられた。以上の結果, Pg-inf Mφ EVs は胎盤・胎児に移行し, それらの成長を抑制することが分かった。これらの所見から, Pg 菌はマクロファージの細胞外小胞を介して胎盤・胎児の成長発育を阻害すると考えられる。

この内容は令和 3 年度 SCRP 日本代表選抜大会で発表したものです。

学会員外共同研究者 植田幸嗣 (公益財団法人 がん研究会 がんプレジジョン医療研究センター)

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Porphyromonas gingivalis impairs placental and fetal development through macrophage-derived extracellular vesicles

○Tanai A¹, Fukuhara Y¹, Eguchi T², Kawai H³, Ikegame M¹, Okamura H¹

¹Dept Oral Morphol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent and Pharm Sci, ²Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ³Dept Oral Pathol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

Periodontitis, a chronic inflammation due to *Porphyromonas gingivalis* (Pg), increases the risk of abnormal pregnancies. In this study, we examined the effect of Pg-infected macrophage extracellular vesicles (Pg-inf MφEVs) in relation to placental and fetal development. Monocytic cell-line (THP-1) were differentiated into Mφ and then infected with Pg for 4 h. After culturing in exosome-free medium for another 48 h, Pg-inf MφEVs were collected from the medium and intravenously injected into pregnant mice. The mice were sacrificed for in vivo imaging, bioinformatics, and histological methods. Pg-inf MφEVs translocated and impaired the maturity of the placenta and fetus. The placenta of the experimental group exhibited restricted blood vessels and angiogenesis related factors. The fetus in the experimental group showed signs of impaired morphology and skeletal development, particularly in the cranium. These results indicated that Pg cause abnormal pregnancy and impair the development of the placenta and fetus through Pg-inf MφEVs.

This content has been presented in Student Clinician Research Program 2021

Non-member collaborator: Koji Ueda (Cancer Precision Medicine Center, Japanese Foundation for Cancer Research)

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

2-P1-P01 *Candida albicans* のバルクオートファジーの代謝制御における役割の 解明

○堀江 哲郎¹, 那須 優則²

¹日歯大 生命歯 衛生, ²日歯大 生命歯 共同利用研究セ

口腔や粘膜に常在する *C. albicans* は、易感染宿主に日和見感染症を引き起こし、全身性カンジダ症に移行すると、致死率は40%を超える。真核生物であり、細胞内プロセスの多くが動物細胞と共通であるため、有効な選択的薬剤が限られ、新規治療法開発のためには、本菌の分子レベルでの解明が重要である。オートファジーは細胞のバルク分解システムである。様々な条件で誘導され、結果として、生じる産物も多種であり、多様な栄養素のリサイクルに関与している。*C. albicans* において、オートファジーは進化的に保存されており、栄養変動の大きい宿主内での生存に利用されていることは想像に難くない。*C. albicans* のオートファジーを解析するために、保存されているオートファジー関連遺伝子群 (autophagy related genes:CaATGs) の網羅的な破壊株の作製を行った。その結果、*C. albicans* では富栄養培地 (YPD) で増殖中、培地中のグルコースが枯渇すると、顕著にオートファジーが誘導されることを見出した。この時、野生型と *atg* 株では代謝物の著しい相違が見られた。しかし、*atg* 株の生育にそれほどの影響がないことが疑問であった。今回、*atg* 株と野生株を YPD で培養し、各生育段階でサンプリングを行い、経時的に RNA-Seq 解析を行った。maSigPro ソフトウェアで時系列比較を行い、*atg* 株に特徴的な発現パターンを示す6つの遺伝子群に分類し、GO 解析を行った。その結果、*atg* 株では代謝関連遺伝子の他に、病原真菌特異的な転写因子群が大きく変動していることが分かった。これは転写因子を介して、オートファジーを相補する機構が機能していると示唆された。病原真菌は、栄養変動の大きい環境で生存するために、細胞内代謝に頑強性を持つのであろう。本会では、今回得られたデータについて、さらに細胞レベルで解析を進めた結果について報告する。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

An investigation of the roles of the bulk autophagy on cellular metabolism in *C. albicans*

○Horie T¹, Nasu M²

¹Dept Oral Health, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ²Res Cent for Odontol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

Candida albicans is a common commensal fungal pathogen of oral cavity, which causes opportunistic infection, which, in immunocompromised individuals, leads to systemic infection with mortality rates of more than 40%. As a eukaryote, it has cellular processes similar to those of mammalian cells, so a limited number of specific antifungal drugs against *C. albicans* infection are available. For more antifungal drug development, fundamental elucidation of the survival strategies and virulence mechanisms of *C. albicans* in hosts is needed. Bulk autophagy is the process of recycling degraded cell compartments in response to various nutrient starvation. We found that upon glucose depletion, bulk autophagy was induced in *C. albicans* growing in yeast/extract/dextrose (YPD) medium. To elucidate the physiological roles of the autophagy, we conducted time course RNA-seq experiment of *atg* mutants and wild type cells growing in YPD. We will report on the results of RNA-seq analysis and discuss about the possible roles of bulk autophagy on cellular metabolism in *C. albicans*.

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

2-P1-P02 比較 Pan-genome 解析による口腔 *Veillonella* 新規エネルギー代謝経路の発見

○眞島いづみ¹, 中澤 太², 清浦 有祐¹

¹奥羽大 歯 口腔病態解析制御, ²インドネシア大 歯 口腔生物

【目的】 *Veillonella* 属細菌はヒト口腔内における優勢細菌である。本属細菌は乳酸を主なエネルギー源とするユニークな生理学的特性が報告されているが、詳細な代謝経路は未だに明らかになっていない。本研究では、口腔 *Veillonella* 全 8 菌種の比較 Pan-genome 解析を行い、これらに保存されているエネルギー代謝経路関連遺伝子の網羅的同定を行った。

【方法】 口腔 *Veillonella* 全 8 菌種のドラフトもしくは全ゲノム情報を取得後、それらの gbk ファイルを BPGA pipeline にて Pan-genome 解析を行った。また、BPGA で同定された Core, Accessory genome および Unique genes のプロテインファミリーを KEGG データベースと参照し、エネルギー代謝経路のマッピングを行った。

【結果】 口腔 *Veillonella* 全 8 菌種は、乳酸の他にフルクトースの代謝経路を Core genome で保存していることが、明らかになった。また、口腔 *Veillonella* 全 8 菌種において、*V. rogosae* が最も多い Accessory genome を、一方 *V. tobetsuensis* が最も多い Unique genes を保有していたが、その Atypical GC content は *V. atypica* が最大値を、*V. tobetsuensis* が最小値を示した。

【考察】 口腔 *Veillonella* 全 8 菌種は、従来の乳酸に加えて、フルクトースをエネルギー源とできることが遺伝学的に初めて証明された。また、*V. rogosae* が口腔 *Veillonella* を代表する特徴を有する一方、*V. tobetsuensis* の特性はユニークであり、*V. atypica* は外来遺伝子の影響を受けやすい可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

The discovery of novel energy metabolic pathways for oral *Veillonella* by the comparative Pan-genome analysis

○Mashima I¹, Nakazawa F², Kiyoura Y¹

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

The genus *Veillonella* is a common and predominant member of the oral microbiome. They have a unique physiological character which consume the lactate as their main energy source. However, the overall of the energy metabolic pathways of oral *Veillonella* has not been clarified. To further understand their energy metabolic pathways, we conducted a comparative Pan-genomic analysis of the type strains of the eight oral *Veillonella* species.

Pan-genomic analysis was performed by BPGA pipeline with default setting using the gbk files of the eight oral *Veillonella* genomes. The core, accessory and unique protein families identified by the BPGA pipeline were then used to perform KEGG pathways.

As the results, the fructose metabolic pathway was constructed by core genomes, meaning that it was conserved in all oral *Veillonella* species. This result proved for the first time that oral *Veillonella* had the ability to consume the fructose as the energy source other than the lactate at the genomic level. Furthermore, *V. rogosae* contained the largest number of accessory genomes among the eight species of oral *Veillonella*. It suggested that *V. rogosae* showed the representative characteristics of oral *Veillonella*.

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

2-P1-P03 口腔 *Neisseria* 属による亜硝酸産生活性と環境因子による影響

○鷺尾 純平, 江副 和子, 佐藤 聡子, 安彦 友希, 小峰 英也, 柴田 怜, 田花 航平,
毛 雪竹, 高橋 信博

東北大 院歯 口腔生化

【目的】緑黄色野菜や唾液に多く含まれる硝酸塩は、口腔内細菌により代謝され亜硝酸塩が産生される。亜硝酸塩は、抗菌効果と血管拡張効果を持つことが知られており、細菌性口腔疾患、狭心症や心筋梗塞などの予防に寄与する可能性があることから、注目が集まっている。口腔 *Neisseria* 属は、そのような亜硝酸産生能（硝酸還元能）を持つ代表的な口腔常在菌である。しかし、その産生に関わる詳細な代謝機構や、口腔環境により受ける影響については不明である。そこで、各種環境条件下における口腔 *Neisseria* 属の亜硝酸産生活性について検討した。

【方法】2種の口腔 *Neisseria* 属 (*Neisseria mucosa*, *Neisseria sicca*) を使用した。各菌の菌懸濁液を作成し、硝酸カリウム、グルコース、乳酸ナトリウム、リン酸緩衝溶液 (pH 5 or pH 7) を入れ、好気・嫌気の両環境下、37度にて代謝させた際の亜硝酸産生量を、Griess 試薬を用いて測定した。また、各菌の粗酵素抽出液を作成し、同様に亜硝酸産生活性を測定した。

【結果】*Neisseria mucosa* のみ亜硝酸産生活性を示した。その活性は、1 mM 乳酸存在下において大きく上昇し (35.7 ± 43.7 倍)、0.5% グルコース存在下においてもやや高くなる傾向 (2.6 ± 1.5 倍) を示した。一方、粗酵素抽出液を用いた際にも、1 mM 乳酸存在下において同様にその活性が大きく上昇した (37.5 ± 25.0 倍)。

【考察】口腔 *Neisseria* 属による亜硝酸産生活性が、乳酸存在下で高くなるという代謝的特徴が明らかになった。特に乳酸による活性上昇は、菌体内の関連酵素に直接影響していることが明らかとなったが、詳細な機序については、さらなる解明が必要と考える。本研究結果は、本菌属が口腔細菌の糖代謝による乳酸が溢れる環境下において、特に亜硝酸塩を効率的に産生することを示しており、本菌による亜硝酸塩産生が合目的的に調節され、う蝕予防等に寄与している可能性を示していると考えている。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

The Nitrite producing activity of oral *Neisseria* and the effect of environmental factors

○Washio J, Ezoe K, Sato S, Abiko Y, Komine Y, Shibata R, Tabana K, Mao X,
Takahashi N

Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Introduction: Some oral bacteria metabolize nitrate to nitrite. Nitrite has antibacterial and vasodilatory effects, and may contribute to the prevention of oral and systemic diseases. Oral *Neisseria* is a representative oral indigenous bacterium that produces nitrite. However, the detailed metabolic property is still unknown. Therefore, we investigated it under various environmental conditions.

Materials and Methods: *Neisseria mucosa* and *Neisseria sicca* were used. Bacterial suspension was incubated with nitrate, glucose, lactate in phosphate buffer solution (pH 5 or 7) aerobically or anaerobically at 37°C. The nitrite production was measured with Griess reagent. Similarly, the nitrite production by cell-free extracts was measured.

Results: Only *Neisseria mucosa* showed nitrite-producing activity. The activity was increased by lactate. Glucose also increased the activity slightly. The activity in the cell-free extracts was increased greatly by lactate.

Discussion: Oral *Neisseria* increased the nitrite production in the presence of lactate. The increase in activity was also found in the cell-free extracts, indicating a direct effect of lactate on the relevant enzyme. The nitrite production can be increased when lactate is produced through the sugar metabolism of oral bacteria, suggesting that the nitrite production may be purposefully regulated and contribute to the prevention of dental caries.

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

2-P1-P04 イミキモドが誘導する炎症性サイトカインおよびインターフェロンβ (IFN-β) 産生におけるザイモザンのプライミング効果

○玉井利代子, 清浦 有祐

奥羽大 歯 口腔病態解析制御

【目的】我々は、以前、*Candida albicans* 加熱死菌の前処理による、TLR2またはTLR4リガンド誘導炎症性サイトカイン産生の増加を報告した。本研究では、マウスマクロファージ様細胞 J774.1 によるイミキモド誘導炎症性サイトカインおよびインターフェロンβ (IFN-β) 産生におけるザイモザンのプライミング効果について検討した。

【方法】ザイモザンは、*Saccharomyces cerevisiae* の細胞壁から抽出したものを供試した。J774.1 細胞は、10%ウシ血清含有 RPMI1640 培地を用いて、5% CO₂, 37°C で継代培養後、96 穴平底マイクロプレートに 1 穴あたり 2×10⁵ 個播種した。一晚培養後 3 回細胞を洗い、同細胞を 0.1-10 μg/ml ザイモザン、カードランまたは Pam₃CSK₄ 含有または不含の培地で 24 時間前培養後、3 回細胞を洗ってからイミキモドまたは poly (I:C) を含んだ培地で 24 時間インキュベーションした。そして、上清を回収後、ELISA で IL-6, MCP-1, TNF-α および IFN-β の産生を定量した。

【結果と考察】(1) ザイモザンによる J774.1 細胞の前処理は、同細胞のイミキモド誘導 IL-6, MCP-1, TNF-α 産生を濃度依存的に増加したが、カードランによる前処理では同サイトカイン産生増加はみられなかった。(2) ザイモザンまたはカードランによる J774.1 細胞の前処理は、同細胞のイミキモド誘導 IFN-β 産生を濃度依存的に抑制した。また、TLR2 リガンド Pam₃CSK₄ による前処理でも同様の結果だった。(3) ザイモザンまたはカードランによる前処理は、J774.1 細胞による poly (I:C) 誘導 IL-6, MCP-1, TNF-α および IFN-β 産生を増加した。以上の結果は、TLR2 および dectin-1 リガンドであるザイモザンは、TLR2 を介してイミキモド誘導炎症性サイトカイン産生を増加する一方で、TLR2 または dectin-1 経路を介してイミキモド誘導 IFN-β 産生の低下を引き起こす可能性を示唆する。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Priming effects of zymosan on imiquimod-induced production of proinflammatory cytokines and interferon (IFN) beta

○Tamai R, Kiyoura Y

Dept Oral Med Sci, Ohu Univ Sch Dent

[Objective] Heat-killed *Candida albicans* augments proinflammatory cytokine production by mouse macrophage-like J774.1 cells incubated with ligands of Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. In this study, we investigated whether zymosan, extracts from fungus cell wall, augmented proinflammatory cytokine production by mouse macrophage-like J774.1 cells incubated with polyinosinic-polycytidylic acid (poly (I:C)), a TLR3 ligand, or imiquimod, a TLR7 ligand.

[Methods] J774.1 cells were pretreated with or without zymosan, a TLR2 and dectin-1 ligand, curdlan, a dectin-1 ligand, or Pam₃CSK₄, a TLR2 ligand in 96-well flat-bottomed plates. Cells were then washed and incubated with poly (I:C) or imiquimod. Culture supernatants were analyzed by ELISA for secreted mouse interleukin (IL)-6, monocyte chemoattractant protein (MCP)-1, tumor necrosis factor (TNF) alpha, and interferon (IFN) beta.

[Results and Discussion] Pretreatment with zymosan or curdlan augmented poly (I:C)-induced production of proinflammatory cytokines and IFNbeta by J774.1 cells. production induced by poly (I:C) was also augmented when cells were pretreated with zymosan. Zymosan also augmented imiquimod-induced proinflammatory cytokine production by J774.1 cells, but not curdlan. However, IFNbeta production induced by imiquimod was reduced when cells were pretreated with zymosan or curdlan. These results suggest that zymosan augments imiquimod-induced proinflammatory cytokine production by J774.1 cells via the TLR2 pathway but not dectin-1.

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

2-P1-P05 *Porphyromonas gingivalis* 標準菌株の再検証

○才木桂太郎, 田代有美子, 山中 幸, 高橋 幸裕

日歯大 生命歯 微生物

【目的】慢性歯周炎の原因菌の一つである *Porphyromonas gingivalis* はグラム陰性の偏性嫌気性菌である。 *P. gingivalis* は糖非分解性であり、細胞内に取り込んだジおよびトリペプチドを唯一のエネルギー源として増殖する。従ってタンパク質を唯一のエネルギー源とする最小培地は *P. gingivalis* 自身が分泌するプロテアーゼに依存した *P. gingivalis* の増殖性の検証に使われてきた。しかし *P. gingivalis* の最小培地での増殖実験は再現性がないことが指摘されていた。本研究はこの再現性がない原因について検証を行った。【方法】W83 と ATCC 33277 は *P. gingivalis* の標準菌株である。他の研究室で保存されている 1 菌株の W83 と計 6 菌株の ATCC 33277 を分与して頂き、当研究室の保存菌株と合わせた 2 菌株の W83 と 7 菌株の ATCC 33277 の種々の最小培地における増殖を比較検証した。【結果】すべての 9 個の標準菌株は LF (Lactalbumin-Ferric chloride) 最小培地、GC (bovine γ -immunoglobulin G-Calcium chloride) 最小培地そして mC (milk-Casein) 最小培地で増殖した。しかし BSA (bovine serum albumin) を唯一のエネルギー源とする種々の最小培地では 2 菌株の W83 と 2 菌株の ATCC 33277 が増殖性の違いを示した。また複合培地では 2 菌株の ATCC 33277 が増殖因子であるメナジオンに対して異なる要求性を示した。結局、調べた 13 種の培地すべてで同様の増殖を示したのは ATCC 33277 の 4 菌株だけであった。【結論】エネルギー源として BSA を用いた最小培地では *P. gingivalis* の増殖実験の再現性が得られない場合があり、それは W83 菌株間と ATCC 33277 菌株間の違いが原因であることが示された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Porphyromonas gingivalis standard strains revisited

○Saiki K, Urano-Tashiro Y, Yamanaka Y, Takahashi Y

Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

Porphyromonas gingivalis is one of the etiologic agents of chronic periodontitis. Minimal media are used to investigate the growth characteristics of bacteria. However, growth of *P. gingivalis* standard strains W83 and ATCC 33277 in minimal media was not always reproducible. To explore this, we analyzed the growth of seven wild-type ATCC 33277 strains and two wild-type W83 strains in 10 minimal media and three complex media. All nine strains grew in LF (Lactalbumin-Ferric chloride), GC (bovine gamma-immunoglobulin G-Calcium chloride), and mC (milk-Casein) minimal media. In contrast, two W83 strains and two ATCC 33277 strains showed the deferent growth in six minimal media containing bovine serum albumin (BSA). In complex media, two ATCC 33277 strains showed the difference in requirement for menadione, a growth factor for some *P. gingivalis* strains. In sum, four ATCC 33277 strains grew similarly in all 13 media, but two W83 and other three ATCC 33277 strains grew differently in at least one medium. These results suggest that the lack of reproducibility can be observed especially in using BSA as an energy source, and is caused by the difference between W83 strains and between ATCC 33277 strains.

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

2-P1-P06 *Prevotella intermedia* の *oxyR* 変異株解析による酸化ストレス耐性と宿主細胞侵入における影響

○内藤真理子, 庄子 幹郎

長大 院医歯薬 微生物

【目的】 これまで全く解明されていない歯周病原菌 *Prevotella intermedia* の口腔環境への適応と病原性について分子生物学的な解明を試みた。

【材料と方法】 これまでに我々のグループが complete whole genome 配列を決定した *P. intermedia* OMA14 株から遺伝子特異変異株の作成を試みた。本菌は酸素ストレス応答に関与する調節因子 *oxyR* 遺伝子を保有する。そこで接合伝達によるシャトルプラスミドの導入条件を検討し、調節因子 *oxyR* 遺伝子をエリスロマイシン耐性遺伝子 *ermF* に置き換えた遺伝子変異株の作成を試みた。得られた *oxyR* 変異株のヒト細胞への侵入性、酸素ストレス耐性を調べた。また遺伝子発現を RNAseq, Q-PCR にて野生株と比較した。

【結果と考察】 *P. intermedia* で、最初の遺伝子特異変異株である *oxyR* 変異株の作成に成功した。RNAseq にて作成した変異株では *oxyR* 遺伝子の下流の遺伝子の発現には影響がないことを確認した。作成した変異株から、この細菌の宿主細胞への侵入には *oxyR* 遺伝子に関わるといったことが明らかになった。また *oxyR* 変異株は過酸化水素水と好気条件下での酸化ストレスにより顕著な生育能の減少を示した。さらに Q-PCR 解析により、*oxyR* 変異株では alkylhydroperoxide reductase システムの遺伝子群 (*ahpC*, *ahpF*), *dps* 遺伝子などの複数の遺伝子発現が著しく減少していることを見出した。今後は、本研究で確立した手法を用いて、*P. intermedia* の病原因子と感染機構を詳細に解析する予定です。

(会員外共同研究者, B. Ross Belvin, Qin Gui, Janina P. Lewis)

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Insertional inactivation of *Prevotella intermedia* OxyR results in reduced survival with oxidative stress and in the presence of host cells

○Naito M, Shoji M

Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Purpose. We try to elucidate the molecular biology of the adaptation and pathogenicity of the periodontal pathogen *Prevotella intermedia* to the oral environment, which has not been elucidated so far.

Materials & Methods. Gene-specific mutant was tried to prepare from *P. intermedia* OMA14, which we have previously determined the complete whole genome sequence. By examining the conditions for introducing the shuttle plasmid by mating transmission, we have developed an allelic exchange replacement of the the *oxyR* gene with *ermF*.

Results & Conclusions. We succeeded to prepare the first gene-specific mutant, *oxyR* mutant strain, in *P. intermedia*. From the mutant strain, we found that the *oxyR* gene is indispensable for the invasion of this bacterium into host cells. Further analyses revealed that its ability to grow under oxidative stress species, such as hydrogen peroxide or atmospheric oxygen, was severely affected. The expression of multiple genes, eg. alkylhydroperoxide reductase system genes, were significantly reduced in the *oxyR* mutant. In future, we plan to further analyze the virulence factors and infection mechanism of this bacterium using this method.

(Non-member collaborators, B. Ross Belvin, Qin Gui, Janina P. Lewis)

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

2-P1-P07 太陽電池を接続した酸化チタン半導体の殺菌効果と細胞傷害性

○佐藤 武則¹, 浜田 信城², 半田 慶介¹

¹神歯大 院歯 口腔生化, ²神歯大 院歯 口腔細菌

【目的】酸化チタン (TiO₂) は化学的安定性と生体親和性をもち、光触媒機能により優れた殺菌効果を示すことが知られている。本研究では太陽電池パネルと接続した TiO₂半導体の口腔細菌に対する殺菌効果とヒト歯肉線維芽細胞への細胞傷害性について検討した。【方法】供試菌は *Streptococcus mutans* と *Porphyromonas gingivalis* を 18 時間嫌気培養して用いた。太陽電池パネルと接続した TiO₂半導体をプラスチック製チューブ内で培養した供試菌液 2 ml に直接作用させ、昼光色の蛍光灯 (6 W) を 7 cm の距離から 60 分間照射した。照射開始から各供試菌液を経時的に回収後、菌体内のアデノシン三リン酸活性をルミノメーターで測定し生菌数を観察することで殺菌効果を評価した。また 96 ウェルプラスチック製プレートに培養したヒト歯肉線維芽細胞に対して太陽電池パネルと接続した TiO₂半導体を作用させ、経時的に培養液を回収し培地中の乳酸脱水素酵素活性を測定して細胞傷害性を評価した。【結果と考察】 *S. mutans* と *P. gingivalis* に対しては時間依存的に殺菌効果を示すとともに、太陽電池数の増加により効果の増大が認められた。またヒト歯肉線維芽細胞の生存率は太陽電池数の増加と作用時間の延長により軽微な低下を示したが、顕著な傷害作用は認められなかった。以上の結果から太陽電池を接続した TiO₂半導体は口腔内細菌の効果的な除去に大きく貢献し、う蝕や歯周病予防に有用であると示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Antibacterial effect and cell toxicity of titanium dioxide semiconductor connected with solar panels

○Sato T¹, Hamada N², Handa K¹

¹Dept Oral Biochem, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ²Dept Oral Microbiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

Titanium dioxide (TiO₂), a chemically stable and biocompatible material, has a great antibacterial effect as a photocatalyst. The present study was to evaluate the antibacterial effect of a TiO₂ semiconductor connected with solar panels (solar-powered TiO₂ semiconductor) on oral bacteria. In addition, we evaluated the cytotoxicity of a solar-powered TiO₂ semiconductor on human gingival fibroblasts (HGF_s). *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis* were cultivated anaerobically for 18 hours in the plastic tube. Solar-powered TiO₂ semiconductor was placed into 2 ml bacterial inoculation and was irradiated with a fluorescent light (6 W) for 0 to 60 minutes at a distance of 7 cm. The volume of adenosine triphosphate in bacterial cells was measured using a luminometer. HGF_s were treated with solar-powered TiO₂ semiconductor in 96-well plastic plates. The lactate dehydrogenase activity of HGF_s were evaluated in the time course. Antibacterial effect of solar-powered TiO₂ semiconductors against *S. mutans* and *P. gingivalis* were increased in a time-dependent manner. The cell viability of HGF_s was decreased by the increasing of the number of solar panels and treatment extension, but remained as minimum cell damage. These results suggest that solar-powered TiO₂ semiconductor contributes the reduction of oral bacteria and prevents caries and periodontal disease.

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

2-P1-P08 *Arachnia rubra* SK-1 株の de novo 全ゲノムアセンブリ

○齋藤 真規, 桑原 紀子, 瀧澤 智美, 小林 良喜, 泉福 英信

日大松戸歯 感染免疫

健康なヒトの歯肉溝から分離された *Arachnia rubra* (SK-1 株) の完全なゲノム配列について報告する。 *A. rubra* は赤い色素を産生するグラム陽性桿菌であり、歯周病原細菌に対して抗菌効果を有している。 16S rRNA 遺伝子配列に基づく相同性の検索において、SK-1 株は *Arachnia propionica* と最も近縁である。 全ゲノム配列の決定は、Pacific Biosciences Sequel II システムを使用して実行された。 SK-1 株の完全なゲノム配列は 3,316,972 bp であり、単一の環状染色体として構成されていた。 また、G + C 含量は 64.2% だった。 タンパク質コード領域は、Glimmer (Ver. 3.02) と Prodigal (Ver. 2.6.3) の結果を結合することにより 3,868 CDS と予測された。 Infernal 1.1.2 によって 20 個の rRNA 遺伝子、tRNAscan-SE 1.3.1 によって 47 個の tRNA 遺伝子が予測された。 さらに機能アノテーションの付与は NCBI BLAST によって実行された。 SK-1 株と *A. propionica* の全ゲノム配列の類似度を比較する ANI 解析は、ANI calculator (<http://enve-omics.ce.gatech.edu/ani/index>) を用い、ANI 値として算出された。 SK-1 株と *A. propionica* の ANI 値は 82.9% を示し、菌種の異同を判断する基準となる 95% を下回ったことから異種であることが証明された。 *A. rubra* (SK-1 株) の全ゲノム配列は、DDBJ に登録し、アクセッション番号 AP02446 を得ている (未公開)。 本研究は、JSPS 科研費 JP16K20700, JP20K10299 の助成を受けたものである。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

De novo assembly of *Arachnia rubra* SK-1^T complete genome sequence

○Saito M, Shinozaki-Kuwahara N, Hashizume-Takizawa T, Kobayashi R, Senpuku H

Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

We report complete genome sequence of *Arachnia rubra* strain SK-1^T, which was isolated from healthy human gingival sulcus. *A. rubra* is a gram-positive bacterium that produces a red pigment and has antibacterial effects on periodontopathogens. Strain SK-1^T is most closely related to *Arachnia propionica* based on the 16S rRNA gene sequence. Genome sequencing was carried out using a Pacific Biosciences Sequel II system. The complete genome of strain SK-1^T consisted of 3,316,972 bp in a single circular chromosome with a G + C content of 64.2%. Protein-coding regions were predicted as 3,868 CDS by the union of Glimmer and Prodigal. The 20 rRNA genes were predicted by Infernal, and the 47 tRNA genes were identified by tRNAscan-SE. The functional annotation was carried out by NCBI BLAST. Pairwise average nucleotide identity (ANI) values comparing strain SK-1^T and *A. propionica* was estimated by the ANI calculator. Strain SK-1^T was a different strain from *A. propionica* because the ANI value was 82.9%. The complete genome sequence of *A. rubra* strain SK-1^T has been deposited in DDBJ under accession number AP02446 (unpublished). This work was supported by JSPS KAKENHI Grant Numbers JP16K20700, JP20K10299. The authors declare that there are no conflicts of interest.

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

2-P1-P09 *Treponema denticola* の表層タンパクが運動性に与える影響の検討

○国分 栄仁, 菊池有一郎, 柴山 和子, 石原 和幸

東歯大 微生物

Treponema denticola は慢性歯周炎の病巣から高頻度で検出され, その発症に深く関与している. 本菌は運動性を有するスピロヘータであり, 本菌の outer sheath には表層プロテアーゼ (dentilisin) および major surface protein (msp) が存在し, 病原因子として細胞への付着や組織内への侵入に機能する事が示唆されている. 本研究では, これらの表層タンパクが本菌の運動性に果たす役割の解明を試みた. 供試菌株としては *T. denticola* ATCC 35405 (野性株), dentilisin 欠損株, Msp 欠損株を用いた. 運動性の評価は, 寒天内のコロニー面積の測定と, ImageJ および Imaris ソフトウェアを用いて暗視野顕微鏡により撮影した運動の解析により行った. 欠損株における寒天内に形成したコロニー面積は野性株が約 0.75 cm^2 であるのに比べ, 減少していた. *T. denticola* の動きを連続撮影した画像をトレースした結果, 野生株に比べ欠損株の移動距離が短い傾向が認められた. 欠損株の運動速度は野生株と比較して有意に低下しており, dentilisin 欠損が部が最も低い値を示した. らせん状の菌体のピッチから計算した菌体 1 回転あたりの運動距離についてみると, 野性株と msp 欠損株では差が認められなかったが, dentilisin 欠損株は, 野生株に比べて有意に低い値を示していた. これらの結果から, dentilisin が運動性に影響することが示され, 口腔環境における歯肉溝内や粘膜上皮での移動に dentilisin が関与することが示唆された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Evaluation of the effect of surface protein of *Treponema denticola* on motility

○Kokubu K, Kikuchi Y, Shibayama K, Ishihata K

Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll

Treponema denticola is a major pathogen of chronic periodontitis. Major surface protein (Msp) and dentilisin are virulence factors of *T. denticola* that are located on the outer sheath. We aimed to clarify whether Msp or dentilisin contribute to the motility of *T. denticola* on motility, by investigating their effects using Msp-deficient, and dentilisin-deficient *T. denticola* strains. Migration activity was analyzed by measuring the colony-spreading activity in agar plates and crawling activity was analyzed using dark-field microscopic observation. The colony area of the mutant strains was smaller than that of the wild-type strain. The trace of the movement of the cell suggested the distance of movement by the mutants were shorter than that of wild type. The velocity of the mutant strains was lower than that of the wild-type strain, with the lowest velocity observed in the dentilisin-deficient strain. Additionally, the ratio of the crawling distance by one revolution to the protoplasmic cylinder pitch in the dentilisin mutant was significantly lower than that in the wild type strain and the Msp mutant. Altogether, these results indicated that dentilisin facilitates the crawling-dependent surface spreading of *T. denticola*.

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

2-P1-P10 *Porphyromonas gingivalis* における一過的な遺伝子発現系の構築

○庄子 幹郎, 内藤真理子

長大 院医歯薬 微生物

【目的】 *Porphyromonas gingivalis* は慢性歯周炎に関わる病原細菌である。本菌の病原因子として、菌体表面のジンジパインプロテアーゼやなどが知られている。これらのタンパク質の輸送機構を研究する方法として、一過的な遺伝子発現系は有益である。今回、本菌における一過的な遺伝子発現系の構築を試みた。【方法】本菌の一過的な遺伝子発現系として Tet-on 発現系を用いることとした。 *tetR* 遺伝子を含む anhydrotetracycline (aTC) 誘導性プロモーター DNA を PCR にて増幅し、その DNA 断片を *mfa1mfa2::ermF* targeting plasmid 内に挿入した。目的遺伝子は誘導性プロモーターの後に挿入した。【結果】本菌において *sacB* 遺伝子を一過的に発現した場合の影響を調べた。スクロース含有 BHI 液体培地において、aTC を添加した場合には明瞭な増殖抑制を認めた。一方、スクロース非含有 BHI 液体培地では、aTC の有無に増殖の差は無かった。次に、この系で *fimA* シグナル配列と His タグを持つルシフェラーゼ遺伝子 (*fimAsigN-luc-His*) が誘導されるか否かを調べた。*fimAsigN-luc-His* 遺伝子は aTC 含有下で十分に発現し、*fimA* シグナル配列にはリポタンパク質輸送系の認識配列があるので、その遺伝子産物は主に培養上清で検出された。一方、リポタンパク質輸送系を利用できない *fimAsigN* [C19A]-*luc-His* は aTC 含有下で十分に発現したが、その遺伝子産物は菌体画分に検出された。【考察】aTC を用いて *sacB* 遺伝子を誘導すると増殖抑制が起きたことから、本菌にて一過的な遺伝子発現系が作動すると考えられる。また、この発現系を用いてリポタンパク質輸送系の構築に成功した。この方法を用いることで、本菌のリポタンパク質輸送系を詳細に調べることができると考えられる。(会員外共同研究者：末吉峻幸)

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Construction of a conditional gene expression system in *Porphyromonas gingivalis*

○Shoji M, Naito M

Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Purpose: *Porphyromonas gingivalis* is known to be a pathogen of chronic periodontitis. *P. gingivalis* has virulence factors such as gingipain proteases and fimbriae on the cell surface. In this study, we tried to construct a conditional gene expression system in *P. gingivalis*. **Methods:** The Tet-on expression system was introduced in *P. gingivalis*. The anhydrotetracycline (aTC)-inducible promoter with the *tetR* gene was inserted into an *mfa1mfa2::ermF* targeting plasmid. A gene of interest was placed after the inducible promoter. **Results:** Effect of the *sacB* gene expression in *P. gingivalis* was investigated. In sucrose-containing BHI liquid medium, addition of aTC inhibited the growth of *P. gingivalis* clearly. Next, we examined whether the luciferase gene with the *fimA* signal sequence and His-tag (*fimAsigN-luc-His*) expressed. In the presence of aTC, the *fimAsigN-luc-His* gene product was detected in the culture supernatant. In contrast, the *fimAsigN* [C19A]-*luc-His* gene product was detected in the cell lysates. **Conclusion:** Growth inhibition by the aTC-induced *sacB* gene suggests that a conditional gene expression system can work in *P. gingivalis*. Using this system, we succeeded in construction of the conditional lipoprotein transport system. The results could be used for further studies of the lipoprotein transport system in *P. gingivalis*.

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

2-P1-P11 *Streptococcus sanguinis* が血管内皮機能に及ぼす影響

○瀧澤 智美, 桑原 紀子, 齋藤 真規, 小林 良喜, 泉福 英信

日大松戸歯 感染免疫

最近, 発表者らの研究室では, 口腔常在菌であり感染性心内膜炎の原因菌とされる *Streptococcus sanguinis* を動脈硬化モデルマウスの口腔内に投与すると, 大動脈で炎症が起こりそれに伴って動脈硬化が促進されたことを報告した. 一方, 化膿性膿瘍の原因菌である *Streptococcus anginosus* は動脈硬化促進に関与しなかった. アテローム性プラークの形成は, 単球の血管内皮細胞への接着により始まる. また, 血管内に侵入した細菌が血管内皮細胞に直接影響を与えることで炎症の起因となることが知られている. そこで本研究は, *S. sanguinis* による動脈硬化促進に関わるメカニズムを解明することを目的とし, *S. sanguinis* が血管内皮細胞の機能障害および単球の活性化へおよびす影響について検討した. ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) と, ヒト単球系白血病細胞 (THP-1) の培養系に *S. sanguinis* あるいは *S. anginosus* を添加し炎症関連因子の発現について遺伝子レベル, タンパク質レベルで解析した. その結果, *S. sanguinis* で刺激した HUVEC では, 単球との相互接着に関与する ICAM-1, VCAM-1, E-selectin の発現が増加し, MCP-1 (単球走化性因子) の培養上清中の産生量が増加した. 対照的に, *S. anginosus* で刺激した HUVEC はこれら細胞接着分子の発現, サイトカインの産生は変化しなかった. 一方, THP-1 細胞では, *S. sanguinis*, *S. anginosus* による刺激で, 炎症性サイトカインである IL-1 α , IL-1 β , および ICAM-1 に対応するリガンドの CD11a の mRNA 発現レベルが増加した. これらの結果から, *S. sanguinis* は炎症性サイトカインの産生および細胞接着分子の発現増加を引き起こすことで単球を集積させ動脈硬化を促進している可能性が示唆された

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Effect of *Streptococcus sanguinis* on vascular endothelial dysfunction

○Hashizume-Takizawa T, Shinozaki-Kuwahara N, Saito M, Kobayashi R, Senpuku H

Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

We showed that the atherosclerosis was progressed by oral challenge of *Streptococcus sanguinis*, a causative agent of subacute infective endocarditis, in hyperlipidemic mice. In contrast, *Streptococcus anginosus* involved in abscess formation, did not contribute to progression of atherosclerosis. It was reported that vascular endothelial dysfunction induced by accumulation of monocytes in endothelium affected the development of atherosclerotic plaques as an initial step. Thus, in this study, we explored the effect of *S. sanguinis* or *S. anginosus* on the human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) and monocytes (THP-1) *in vitro*. Our results showed that the gene expressions of cell adhesion molecules including ICAM-1, VCAM-1, and E-selectin and production of MCP-1 were increased in *S. sanguinis* but not *S. anginosus*-stimulated HUVEC. Whereas the mRNA expressions of pro-inflammatory cytokines (IL-1 α , IL-1 β) and CD11a, the ligand of ICAM-1, were similarly upregulated in THP-1 cells stimulated by both oral streptococci. These results suggest that *S. sanguinis* may cause increase of inflammatory cytokines and cell adhesion molecules, which in turn leads to the progression of atherosclerosis.

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

2-P1-P12 *Porphyromonas gulae* LPS 誘発炎症反応における緑茶ポリフェノールの抗炎症作用

○稲葉 裕明, 吉田 翔, 仲野 道代

岡大 院医歯薬 小児歯

【目的】動物由来歯周病菌 *Porphyromonas gulae* は, *Porphyromonas* 属の新種として発見された。犬などの伴侶動物からだけでなく, 伴侶動物を飼育するヒトの歯周病変部位からも検出される。これまでに我々は *P. gulae* は lipopolysaccharide (LPS) の存在を証明し, 歯肉上皮細胞に発現する TLR2/4 に *P. gulae* LPS が認識され, p38 と ERK1/2 のリン酸化を介して COX2, TNF- α , IL-6 ならびに IL-8 の産生が誘導されることを報告した。天然食品由来の安全な歯周病予防素材を探索するため, 今回, 緑茶由来ポリフェノールが *P. gulae* LPS に刺激された歯肉上皮細胞に及ぼす抗炎症作用を評価した。【方法】LPS は *P. gulae* DO49 株から LPS extraction kit を用いて精製した。ポリフェノール試料として緑茶由来 EGCg, EGC, ECG, EC を用いた。ヒト歯肉上皮細胞株 Ca9-22 細胞に *P. gulae* LPS と共に緑茶由来ポリフェノール群を添加し, p38 と ERK1/2 のリン酸化, 炎症反応ならびに TLR2/4 の発現に及ぼす影響を観察した。【結果】EGCg, EGC, EC は 1-50 μ M の濃度で炎症反応を抑制した。一方で, ECG は 25-50 μ M の濃度でのみ炎症反応を抑制した。さらに緑茶由来ポリフェノール群は p38 と ERK1/2 のリン酸化ならびに TLR2/4 の発現を抑制した。

【考察】EGCg, EGC, ECG, EC のいずれもが *P. gulae* LPS による炎症反応を抑制することが認められた。さらに, 緑茶由来ポリフェノール群は TLR2/4 の拮抗薬として LPS が誘発する炎症を抑制する可能性が示唆された。会員外共同研究者: 大阪大学大学院歯学研究科小児歯科学分野 野村良太, 仲野和彦

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Green tea-derived polyphenols inhibited inflammatory responses stimulated with *P. gulae* LPS

○Inaba H, Yoshida S, Matsumoto-Nakano M

Dept Pediatr, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

Objective: *P. gulae* organisms have been isolated from the gingival sulcus of various animal species. Furthermore, recent studies have reported that *P. gulae* was detected in human gingival tissues from healthy and diseased site. And its virulence has been attributed to various factors, including lipopolysaccharide (LPS), protease, and fimbriae. We previously reported that *P. gulae* LPS was found to induce phosphorylation of p38 and ERK1/2 via Toll-like receptor (TLR) 2 and 4 in human gingival epithelial cells, resulting in inflammatory responses, such as COX2, TNF- α , IL-6, and IL-8. In this study, we examined green tea-derived polyphenols to determine their ability to inhibit inflammatory responses mediated with *P. gulae* LPS. **Methods:** LPS were extracted from *P. gulae* DO49 culture using an LPS extraction kit. Real-time polymerase chain reaction was performed with specific primers for TLR2 and TLR4. Immunoblotting was performed with specific antibodies for anti-p38 and anti-ERK1/2. **Results:** Green tea-derived polyphenols prevented inflammatory responses. Moreover, p38 and ERK1/2 phosphorylation was decreased as well as TLR2/4 expressions. **Conclusion:** These findings indicate that *P. gulae* LPS-induced inflammatory is possible to be suppressed by green tea polyphenols, which function as TLR2/4 antagonists.

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

2-P1-P13 総義歯プラークモデルを用いた義歯洗浄剤の有効性評価

○濱田 昌子, 五味 満裕

小林製薬 (株) 中央研

義歯プラークの洗浄は口臭抑制のみならず口腔の健康維持に不可欠である。演者らはこれまでに、次世代シーケンサーを用いた義歯プラークの詳細な解析により、*Streptococcus* 属、*Actinomyces* 属、*Veillonella* 属、*Rothia* 属が細菌全体の約 60% を占め、真菌の優占種が *Candida albicans* であることを明らかとしている。本研究では、得られた知見を元に総義歯プラークモデルを構築し、義歯洗浄剤の有効性評価を行った。総義歯と同一の材質であるレジンチップをヒト唾液とスクロースを添加したブレイン・ハート・インフュージョン液体培地に浸漬し、プラークの優占細菌 4 種と *C. albicans* を接種して、嫌気条件下にて、37°C、24 時間培養を行った。得られたプラークモデルを、義歯洗浄剤存在下又は非存在下にて 37°C、30 分間洗浄した。洗浄後、プラークモデルの生菌数測定及びレジンからのプラークモデルの剥離し易さの評価を行った。その結果、義歯洗浄剤による洗浄でプラークモデルの微生物が 4log 以上減少し、プラークモデルがレジンから剥離し易くなることが明らかとなった。続いて、洗浄後のプラークモデルを LIVE/DEAD Bacterial Viability Kit にて染色し、共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。その結果、義歯洗浄剤による洗浄でプラークモデル中の大部分の微生物が膜損傷を受けることが明らかとなった。以上の結果から、義歯洗浄剤による洗浄には、プラーク内の微生物を減少させる効果に加え、プラークを剥離し易くする効果があることが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Evaluation of the efficacy of a denture cleanser using an in vitro denture plaque model

○Hamada S, Gomi M

Kobayashi Pharmaceut Co Ltd Central R&D Lab

Cleansing a denture plaque is important to prevent oral malodour and to keep the oral cavity healthy. By performing next-generation sequencing and isolating microorganisms, we clarified *Streptococcus* sp., *Actinomyces* sp., *Veillonella* sp. and *Rothia* sp. occupied approximately 60% of the full-denture plaque, and *Candida albicans* was the dominant fungi. In this study, we evaluated the efficacy of a denture cleanser by developing an in vitro denture plaque model (DPM). To make an in vitro DPM, the denture base resins were immersed in BHIB containing human saliva and sucrose. The four dominant bacterial species and *C. albicans* were inoculated in this broth. The resins were then incubated overnight under anaerobic conditions at 37 degree C. The DPM was cleaned with or without the cleanser. The efficacy of the cleanser was evaluated based on antimicrobial efficacy and the degree of removal efficacy. The cleanser achieved over a 4-log reduction of microorganisms in the DPM. Moreover, with the cleanser, the DPM was removed in a better manner than without the cleanser. After cleansing, the DPM was dyed with LIVE/DEAD BacLight and observed using a confocal laser microscope. The results suggested the cleanser damaged the cell membrane of almost all microorganisms in the DPM.

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

2-P1-P14 深層学習による歯周炎・インプラント周囲炎の識別方法の検討

○渡辺 孝康¹, 芝 多佳彦², 中野 善夫¹

¹日大 歯 化, ²医科歯科大 院医歯 歯周病

細菌叢を構成している多様な細菌のバランスの乱れはディスバイオーシスと呼ばれ, 次世代高速シーケンサーによるビッグデータ取得技術の発展とともに, ディスバイオーシスを疾患の病因として捉える考え方が近年広がってきている。しかし, 細菌叢の構成には個人差が大きく, これを簡便に比較することは難しい。一方, 画像認識や検索エンジンの高速化など, 多方面で人工知能技術が応用されつつあるが, 医療面での応用は発展途上である。本研究では, 細菌の獲得免疫機能を担う clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) に着目し, 人工知能技術の一つである深層学習によって, 歯周炎・インプラント周囲炎の識別方法を検討した。歯周炎の患者6名およびインプラント周囲炎の患者4名について, メタゲノムデータから CRISPR を抽出し, CRISPR の部分配列であるスペーサーの種類を患者間で比較した。その結果, スペーサー保有パターンは疾患の種類によらず患者ごとに特有であるとみられた。これを階層クラスタリングならびに主成分分析にて比較したところ, いずれの手法でも疾患ごとの明確なクラスターは認められず, 従来法では疾患の分類が困難なことがわかった。ここで深層学習を適用した結果, 最大で90%の正解率にて疾患の識別がなされた。以上から, 患者ごとの特異性が高く直感的な識別が困難な CRISPR 情報に対して, 深層学習を適用することで高精度に疾患の識別ができ得ることが示された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Investigation of distinguishing periodontitis and peri-implantitis using deep learning

○Watanabe T¹, Shiba T², Nakano Y¹

¹Dept Chem, Nihon Univ Sch Dent, ²Dept Periodontol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

Dysbiosis, an imbalanced state of microbiota, has been recognized as a potential cause of infectious disease; this has been facilitated by development of a high-throughput sequencer. However, it is difficult to simply compare bacterial composition between patients because of individual differences. Meanwhile, artificial intelligence is a growing technology used for various purposes such as image recognition, but its application to medical use is under development. In this study, clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) for bacterial acquired immunity was used to distinguish periodontitis and peri-implantitis using deep learning, which is a method of artificial intelligence. The CRISPR information extracted from 6 periodontitis and 4 peri-implantitis patients seemed almost specific to each patient and hard to be distinguished according to disease types when hierarchical clustering and principal component analysis were performed. On the other hand, deep learning could distinguish two diseases with high accuracy. Overall, we demonstrated that the CRISPR information is difficult to intuitively recognize but can be used for distinguishing patients according to disease types using deep learning.

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

2-P1-P15 脂肪酸塩の *Streptococcus mutans* バイオフィームに対する影響

○倉橋 絢子¹, 渡辺 清子², 佐藤 武則³, 稲葉啓太郎¹, 半田 慶介³, 浜田 信城¹

¹神歯大 院歯 口腔細菌, ²神歯大 院歯 教養教育, ³神歯大 院歯 口腔生化

Streptococcus mutans は、う蝕の主な原因菌であり、スクロースを基質として不溶性グルカンを産生し、プラークを歯面に強固に固着させる。石けんの天然成分である脂肪酸塩は、*Staphylococcus aureus* に対し殺菌効果を示すことが報告されているが、口腔内細菌に対する影響についてはあまり報告されていない。本研究では、脂肪酸塩の口腔内への有用性を検討する目的で、9種類の脂肪酸塩（C4K, C6K, C8K, C10K, C12K, C14K, C18:1K, C18:2K, C18:3K）を用いて、*Streptococcus mutans* に対する最小殺菌濃度（MBC）および *Streptococcus mutans* バイオフィームに対する影響を蛍光顕微鏡および走査型電子顕微鏡を用いて検討した。さらに、脂肪酸塩のヒト歯肉線維芽細胞に対する細胞傷害性について検討し、脂肪酸塩の有効性と安全性を評価した。その結果、C12K, C18:2K および C18:3K は、*Streptococcus mutans* に対して MBC 値が 1.4 mM 以下で優れた殺菌作用を示した。また、*Streptococcus mutans* バイオフィームに C12K, C14K, C18:1K, C18:2K および C18:3K を作用させると、バイオフィーム全体に死菌が著しく増加している像が認められ、優れた殺菌作用を示した。さらに、*Streptococcus mutans* バイオフィームの形成抑制と菌塊数の減少および菌体細胞の形態変化が観察された。また、C18:2K および C18:3K を除く脂肪酸塩は、1 mM ではヒト歯肉線維芽細胞に対する細胞毒性は認められなかった。これらの結果から、C12K, C18:2K および C18:3K はう蝕予防に有効であることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Bactericidal effects of fatty acid salts against oral bacteria and effects on *Streptococcus mutans* biofilm

○Kurahashi A¹, Watanabe K², Sato T³, Inaba K¹, Handa K³, Hamada N¹

¹Dept Oral Microbiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ²Dept Lib Arts Educ, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ³Dept Oral Biochem, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

Streptococcus mutans is a major causative agent of dental caries. It produces insoluble glucan using sucrose, which causes plaque to adhere firmly to the tooth surface. Fatty acid salts, natural components of soap, have been reported to have bactericidal effects on *Staphylococcus aureus*. However, little is known about their antibacterial activity against oral bacteria. In this study, we evaluated the minimum bactericidal concentration of fatty acid salts against *Streptococcus mutans* using nine fatty acid salts (C4K, C6K, C8K, C10K, C12K, C14K, C18:1K, C18:2K and C18:3K). We also examined their effects on *Streptococcus mutans* biofilm using a live/dead cell viability assay and scanning electron microscopy. Moreover, their cytotoxic activity in human gingival fibroblasts was examined. Marked bactericidal activity of C12K, C18:2K and C18:3K was observed against *Streptococcus mutans*. Treatment of the pre-formed *Streptococcus mutans* biofilms with C12K, C14K, C18:1K, C18:2K, or C18:3K markedly reduced the number of viable bacterial cells and bacterial clumps, and disrupted bacterial cell morphology. No cytotoxic activity of fatty acid salts except C18:2K and C18:3K on human gingival fibroblasts was observed at 1 mM. These results suggest that C12K is a useful component to prevent dental caries.

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

2-P1-P16 通所サービスを利用する在宅高齢者の舌常在細菌叢と全身及び口腔の健康との関連

○朝川美加李¹, 竹下 徹^{1,2}, 影山 伸哉¹, 馬 佳楽¹, 山下 喜久¹

¹九大 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いる。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ることから、特に嚥下機能の低下した高齢者においては、これらの細菌の肺への流入が誤嚥性肺炎の発症に寄与することが示唆されている。しかしながら、舌細菌叢と健康との関連については未だ不明な点が多い。本研究では通所サービスを利用する在宅高齢者の舌苔の細菌構成を解析し、その結果と全身及び口腔の状態との関連について検討を行った。対象者は福岡県糸島市に在住し、通所サービスを利用している85歳以上の高齢者112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。クラスター解析の結果、対象者の舌細菌叢は *Prevotella* や *Veillonella* などが優勢なタイプ1 (n=75) と *Neisseria* や *Fusobacterium* などが優勢なタイプ2 (n=37) に分類された。タイプ1の対象者はタイプ2の対象者に比べ、年齢が有意に高く、菌種多様性が有意に低かった。タイプ1において優勢であった菌種の総構成比率は、歯科専門職による口腔ケアを全く受けていない者と比較して、週1回以上受けている者において有意に低かった。以上より、歯科専門職による週1回以上の口腔ケアが、肺炎関連死亡との関連が示唆されているタイプ1において優勢な細菌種の構成比率を低下させる可能性があることが示唆された。

【会員外共同研究者：古田美智子，須磨紫乃】

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Tongue microbiota and health-related conditions in elderly adults receiving day service

○Asakawa M¹, Takeshita T^{1,2}, Kageyama S¹, Ma J¹, Yamashita Y¹

¹Sect Prevent Dent Public Health, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Tongue microbiota is a primary source of numerous microbes constantly ingested with saliva, and therefore careful attention to regulate tongue microbiota is required for the maintenance of health of elderly adults, who are susceptible to aspiration pneumonia. We analyzed tongue microbiota composition of 112 elderly adults (aged ≥ 85 years) living at their own home and using day service by 16S rRNA gene amplicon sequencing approach. The V1-V2 regions of the gene sequencing analysis revealed that the tongue microbiota was classified into two community types; type 1 (n=75) dominated by *Prevotella* and *Veillonella* species, type 2 (n=37) dominated by *Neisseria* and *Fusobacterium* species. The subjects with type 1 microbiota were significantly older than those with type 2 and alpha diversity of type 1 microbiota was significantly lower than those of type 2. The relative abundance of predominant taxa in type1 were lower in subjects who received professional oral care at least once a week than in those who did not. These results suggest that professional oral care at least once a week may be decreased the relative abundance of type 1 bacteria, which has been suggested to be associated with pneumonia-related health problems.

Non-member collaborators: Michiko Furuta, Shino Suma

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

2-P1-P17 ナノバブル水の曝露による唾液細菌叢への影響に関する予備的検討

○相良 献¹, 吉田 明弘², 安細 敏弘¹

¹九歯大 地域健康開発, ²松歯大 微生物

ナノバブル水は気体を直径 1 μ m 以下のサイズの気泡として溶存させた液体で、数ヶ月にわたり安定して溶存させることができる。この特徴を利用し工業・環境分野での応用がされている。歯科分野において、オゾンナノバブル水は根管洗浄や歯周疾患治療の一部で利用されているが、オゾンは半減期が短いことから効果の持続性が限定的とされる。我々は北九州市立大学と共同で酸素ナノバブル水および次亜塩素酸ナノバブル水の歯周疾患関連細菌ならびに唾液細菌叢への影響を検討し、興味深い知見が得られたので報告する。口腔内細菌への生育に及ぼす影響を観察するために供した菌株は、*Porphyromons gingivalis* (ATCC33277 および W83) ならびに *Fusobacterium nucleatum* (以下、*F. n*) である。培養は通法に従い、GAM 培地もしくは BHI 培地を用い、37 $^{\circ}$ C、3 日間嫌気下で行った。酸素ナノバブル水、次亜塩素酸ナノバブル水および次亜塩素酸水を添加したものを実験群、超純水をコントロール群とし、嫌気下で 2 日間培養後、寒天培地に播種し 48 時間後のコロニー生育状況の観察を行った。次にナノバブル水による唾液細菌叢への影響を検討するため刺激時唾液から DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いて解析を行った。ナノバブル水曝露による生育への影響は、*F. n* において次亜塩素酸ナノバブル水、次亜塩素酸水群でコントロール群に比べてコロニー数が減少傾向にあったが、酸素ナノバブル水による曝露では明らかな変化がみられなかった。次に唾液細菌叢への影響をみたところ、各種ナノバブル水において多様性の減少がみられ、また Orange complex に属する菌種の一部が減少傾向にあった。本研究の結果、各種ナノバブル水の曝露により唾液細菌叢の多様性の変化に影響を与えていることが示唆された。今後、観察数を増やすことで更なる検討を行う予定である。【会員外共同研究者】李丞佑, 片岡正太

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Preliminary study on effects of nanobubble water on salivary microbiota

○Sagara K¹, Yoshida A², Ansai T¹

¹Div Community Health Dev, Kyushu Dent Univ, ²Dep Oral Microbiol, Matsumoto Dent Univ

Nanobubble water is a type of water that stabilizes gas in a liquid within bubbles less than 1 μ m in diameter. The present study investigated the effects of oxygen nanobubble and hypochlorous acid nanobubble preparation on periodontopathic bacteria and salivary microbiota. *Porphyromons gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* (*F. n*) were exposed to oxygen nanobubbles, hypochlorous acid nanobubbles, or hypochlorous acid water (experimental groups), or ultrapure water (control) under anaerobic conditions, then observed on culture media. To determine the effects of nanobubbles on oral microbiota, salivary DNA was extracted and analyzed using a next generation sequencer. The results showed that the number of *F. n* colonies tended to decrease in the hypochlorite nanobubble and hypochlorite water preparations as compared to the control, while no significant change was observed with exposure to oxygen nanobubble water. As for the effects on oral microbiota, the diversity was decreased when exposed to each nanobubble water preparation, with some in the orange complex showing a decreasing trend. These results suggest that exposure to nanobubble water may cause changes oral microbiota diversity. Further research is ongoing.

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

2-P1-P18 マクロライド系抗菌薬の作用による *Porphyromonas gingivalis* の遺伝子発現への影響

○桑原 紀子¹, 平塚 浩一², 稲葉啓太郎³, 浜田 信城³, 泉福 英信³

¹日大松戸歯 感染免疫, ²日大松戸歯 生化, ³神歯大 院歯 口腔科学

【目的】 主要な歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* に対し, マクロライド系抗菌薬であるアジスロマイシンを最小発育阻止濃度(MIC)よりも低い濃度(sub-MIC)で培地に添加することにより, 本菌の様々な病原因子が影響を受けることを報告した. 本研究では過去に報告した病原因子の遺伝子を含め, アジスロマイシンの *P. gingivalis* の全遺伝子発現へ及ぼす影響について網羅的な検討を行った. 【方法】 アジスロマイシンを添加した液体培地に *P. gingivalis* ATCC 33277 株を 18 時間培養後, total RNA を抽出した. mRNA-rich なサンプルを調製し, マイクロアレイで全遺伝子発現量の解析を行った. 発現量が 2 倍以上変動した遺伝子を検討の対象とした. 【結果】 アジスロマイシンを添加した結果, 発現量が 2 倍以上の差がある遺伝子数は 890 個であり, 増加は 495, 減少では 395 個であった. 発現量が減少した遺伝子には, *P. gingivalis* の病原因子である *fimA*, *rgpA*, *rgpB*, *kgp*, *hagA* が含まれ, 加えて細菌の外敵からの防御機能とされる CRISPR-Cas に関連する遺伝子が数多く含まれていた. 近年 *P. gingivalis* の CRISPR-Cas システムは外敵からの防御機能のほかに *P. gingivalis* 自身の遺伝情報の多様化を制御している可能性が示唆されていることから, sub-MIC のアジスロマイシンでは *P. gingivalis* の主要な病原因子発現が抑制される一方で, CRISPR-Cas システムの機能低下を引き起こすことで, 薬剤耐性遺伝子などの外来遺伝子の取り込みを容易にする可能性が示唆された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Effects of macrolide antibacterials on gene expression of *Porphyromonas gingivalis*

○Shinozaki-Kuwahara N¹, Hiratsuka K², Inaba K³, Hamada N³, Senpuku H³

¹Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ²Dept Biochem Mol Biol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ³Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

Porphyromonas gingivalis is one of the major pathogens associated with periodontitis. It has been reported that sub-minimum inhibitory concentration (sub-MIC) of azithromycin, one of the macrolide antibacterial drug, has affected the bacterial virulence. The aim of this study is to investigate the effects of macrolide antibacterial drug, azithromycin, on their transcripts of *P. gingivalis* genes under the sub-MIC condition. *P. gingivalis* ATCC 33277 were cultured anaerobically in Brucella broth containing sub-MIC azithromycin for 18 hours. mRNA-rich sample was prepared from total RNA, and then subjected to microarray analysis using custom made array. Azithromycin influenced 890 genes (495 upregulated and 395 downregulated) using filtering criterion of two-fold change by microarray analysis. Among the down regulated genes, virulence factors such as *fimA*, *rgpA*, *rgpB*, *kgp*, and *hagA* were included. In addition, CRISPR-Cas system associated transcripts were decreased remarkably. Recently, *Porphyromonas* CRISPR-Cas is reported the regulation of the diversification of genetic information as well as an adaptive immunity system of bacteria. Thus, the sub-MIC of azithromycin suppresses the expression of the *P. gingivalis* pathogens, in addition, the uptake of foreign genes including drug resistance genes might be increased though a failure of the CRISPR-Cas system.

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

2-P1-P19 *Porphyromonas gingivalis* における 9 型分泌機構の発現制御

○雪竹 英治, 庄子 幹郎, 中山 浩次, 内藤真理子

長大 院医歯薬 微生物

【目的】 歯周病細菌 *Porphyromonas gingivalis* は、強力なタンパク質分解酵素であるジンジパインを含む多くの病原因子を 9 型分泌機構 (T9SS) により菌体表面および菌体外に分泌する。私たちは T9SS 構成タンパク質の遺伝子発現制御因子として二成分制御系 PorX/PorY と ECF シグマ因子 SigP を報告した。さらに最近、私たちはそれらの上位に位置する遺伝子発現制御因子として菌体表面に存在する T9SS CTD 含有タンパク質 PorA を発見した。本研究では PorA の His タグ挿入体を構築し、PorA 結合性タンパク質の探索等を行った。

【方法】 (1) PorA の G¹⁴⁵ と T¹⁴⁶ の間に His タグを挿入した *porA* 遺伝子 (*porA*-His145) を構築し、*porA* 欠損株を相補できるかを調べた。(2) 菌体内で PorA-His145 に結合するタンパク質の同定を試みた。(3) PorU プロテアーゼ切断部位の T¹⁶²D¹⁶³ を欠損した *porA*-His145 変異遺伝子 (*porA*-His145[ΔTD]) を構築し、*porA* 欠損株を相補できるか、および A-LPS へ結合できるかを調べた。

【結果】 (1) *porA*-His145 は *porA* 欠損株を相補できた。(2) PorA-His145 を His タグ精製したところ、共沈降タンパク質として PorY を発見した。(3) *porA*-His145[ΔTD] は *porA* 欠損株を相補し、PorA-His145[ΔTD] は A-LPS と結合しなかった。

【考察】 プロ型 PorA が T9SS の発現制御に関わること、さらにプロ型 PorA と PorY の結合がシグナル伝達に関わる可能性が示唆された。

会員外共同研究者：伊藤季香 (長崎大学), Paul Veith (メルボルン大学)

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Gene regulation of the T9SS component proteins in *Porphyromonas gingivalis*

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

Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Objectives: *Porphyromonas gingivalis* secretes gingipain proteases and other virulence factors to the cell surface via the type IX secretion system (T9SS). A two-component regulatory system, PorXY, and a ECF sigma factor, SigP, were known for gene regulation of the T9SS component proteins. Recently, we have reported that PorA, which is secreted by T9SS, is involved in upstream of their activation. We investigated how PorA is involved in gene regulation of the T9SS component proteins.

Methods: (1) We tested if *porA*-His145, which has a His tag between G¹⁴⁵ and T¹⁴⁶ of PorA, could complement the *porA* mutant. (2) Identification of proteins that can bind to PorA-His145. (3) PorA binds to A-LPS after cleavage between T¹⁶² and D¹⁶³ by PorU protease. We tested if *porA*-His145 [ΔTD] could complement the *porA* mutant and PorA-His145 [ΔTD] could bind to A-LPS.

Results: (1) *porA*-His145 could complement the *porA* mutant. (2) PorY was found in one of coprecipitated molecules with PorA-His145. (3) *porA*-His145 [ΔTD] could complement the *porA* mutant. PorA-His145 [ΔTD] did not bind to A-LPS.

Discussion: Pro-form of PorA is involved in gene regulation of the T9SS component proteins. In addition, the binding of pro-form of PorA to PorY may be involved in signal transduction.

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

2-P1-P20 *Streptococcus mutans* のバクテリオシン nukacin に対する新規耐性因子の同定

○松尾 美樹, Le Mi Nguyen-Tra, 小松澤 均

広大院医 細菌

口腔内では複雑な細菌叢が形成されているが、口腔細菌叢は個体差があり、この個体差は生活環境などに起因することが示唆されているが、詳細は明らかではない。口腔細菌叢の主要な構成細菌であるレンサ球菌は抗菌性因子であるバクテリオシンを産生することが知られていることから、私達は細菌叢の多様性を規定する因子の1つとして、バクテリオシンに着目している。本研究では、当教室で分離した *Streptococcus mutans* 124 株から、これまでに報告が少ない mutacinK8 遺伝子保有株 (K8+) 23 株に着目した。K8+株は mutacinK8 生合成に関与する特異的な領域を保持しており、そのうち自己耐性に関与すると考えられる ABC トランスポーター ScnFEG が *Staphylococcus* 属が産生する nukacin に対する新規耐性因子として見出された。mutacinK8 遺伝子保有 (K8-) 株である UA159 では ABC トランスポーターである LctFEG が nukacin 耐性を担っていることが過去の研究で明らかになっている。K8+株、K8-株ともに *lctFEG* と *scnFEG* を保持しており、ともに共通した二成分制御系 (TCS) に制御を受けており、この TCS の制御のもと、K8+株では ScnFEG が、K8-株では LctFEG が各々 nukacin 耐性を担うことが明らかになった。さらに、K8+と K8-間で LctFEG と ScnFEG のアミノ酸配列に特徴的な違いがあることが明らかになった。本研究では mutacinK8 を産生する株は見出すことはできなかったが、nukacin と mutacinK8 は構造が似ていることから今回新規耐性因子として見出した ScnFEG は mutacinK8 自己耐性にも関与していることが考えられる。さらに mutacinK8 遺伝子領域の有無が、LctFEG と ScnFEG のアミノ酸配列の特徴的な違いに寄与している可能性が考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Identification of a new resistance factor against nukacins in *Streptococcus mutans*

○Matsuo M, Le M, Komatsuzawa H

Dept Bacteriol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

Since *Streptococci*, which are the major bacterium of the oral flora, are known to produce the antibacterial factor called bacteriocin, we focus on bacteriocins as one of the factors that determine the diversity of the bacterial flora. In this study, we evaluated mutacinK8 gene-positive (K8+) *Streptococcus mutans* strains. The K8+ strain retains a specific region involved in mutacinK8 biosynthesis, of which the ABC transporter ScnFEG, which is thought to be involved in immunity, was found as a novel resistance factor to nukacin produced by the genus *Staphylococcus*. Previous studies have shown that the ABC transporter LctFEG is responsible for nukacin resistance in the mutacin K8 gene-negative (K8-) strain UA159. Both K8+ strain and K8- strain have *lctFEG* and *scnFEG*, and both are controlled by a common two-component regulatory system (TCS). Under the control of this TCS, it was revealed that ScnFEG is responsible for nukacin resistance in K8+ strain. Although no strain producing mutacinK8 was found in this study, nukacin and mutacinK8 have similar structures, suggesting that ScnFEG, which was found as a novel resistance factor, is also involved in mutacinK8 immunity.

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

2-P1-P21 唾液中タンパク質の抗真菌作用と薬剤耐性解除作用の検討

○福井佳代子¹, 仲村健二郎¹, 原 基¹, 二宮 一智^{1,2,3}, 桑島 治博¹, 今井あかね^{4,5}

¹日歯大新潟 薬理, ²日歯大 新潟病院 総合診療科, ³日歯大 新潟病院 口腔外科診療科, ⁴日歯大新潟 生化, ⁵日歯大新潟短大

【目的】近年, 薬剤耐性が問題となっている. 抗真菌薬は種類や数が少ないため, 感染症が増加し薬剤耐性となった際に大きな課題となる. 昨年, 我々は唾液中タンパク質, ラクトフェリンやシスタチン S の抗真菌作用や薬剤耐性解除作用などを報告した. 今回, シスタチン C, 卵白シスタチン, ロイペプチン, 唾液中タンパク質であるムチンの抗真菌作用について調べた.

【方法】微量液体希釈法において各薬剤の *Candida albicans* 標準株に対する抗真菌作用を調べた. また, 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 *C. 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) を用いて, ムチン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】ムチンは, 単独で *C. albicans* 標準株に対して抗真菌作用を示した. シスタチン C, 卵白シスタチン, ロイペプチンは, *C. albicans* 標準株に対してシスタチン S と同様な抗真菌作用を示さなかった. 卵白シスタチン, ロイペプチン, ムチンは, フルコナゾール併用で耐性株においてフルコナゾール耐性解除作用は認められなかった.

【考察】ムチンには薬物耐性解除作用がないことが分かった. また, 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た. 本研究により, シスタチン S, ムチンなどの唾液中タンパク質が *C. albicans* に対して抗真菌作用を示すことが明らかになり, 新しい抗真菌薬開発の糸口になると考えられる.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

Antifungal and drug resistance reverser effects of saliva protein

○Fukui K¹, Nakamura K¹, Hara H¹, Ninomiya K^{1,2,3}, Kuwashima H¹, Imai A^{4,5}

¹Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ at Niigata, ²Comprehensive Dent Niigata Hosp, Nippon Dent Univ, ³Oral Maxillofac Surg, Niigata Hosp Nippon Dent Univ, ⁴Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, ⁵Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ at Niigata

Introduction Antifungal resistance has become an increasingly severe problem. We had previously reported the antifungal and drug resistance reverser effects of lactoferrin and cystatin S and have investigated the effects of mucin, cystatin C, leupeptin and chicken egg cystatin this time.

Materials & Methods The antifungal effect of each drug on *Candida albicans* was tested by a microdilution method. The antifungal resistance reverser effects were investigated using *Saccharomyces cerevisiae* AD1-8u⁻, lacking its major transporters associated with drug efflux (parent strain) and the parent-strain-inserted *C. albicans* drug resistance gene *cdr1* (resistant strain). The growth inhibition of each strain caused by the combination of fluconazole and each tested agent was evaluated by measuring OD₆₂₀.

Results Leupeptin and chicken egg cystatin showed no antifungal activity against the standard *C. albicans* strain and no antifungal resistance reverser activity. Cystatin C showed no antifungal activity against the standard *C. albicans* strain. Although the mucin did not alleviate fluconazole-resistance activity, it showed antifungal activity without fluconazole.

Discussion Mucin had no effect on *C. albicans* *Cdr1p*, but did demonstrate antifungal activity against *C. albicans*. These results could be a clue to the development of new drugs.

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

2-P1-P22 遊離歯肉移植術により角化粘膜を付与したインプラント周囲の細菌叢構成の変化

○柴崎 真樹¹, 下岸 将博¹, 渡辺 孝康², 丸川恵理子¹

¹医科歯科大 院医歯 口腔再生再建, ²日大 歯 化

インプラント周囲炎は天然歯における歯周炎と類似した疾患であるが、歯周炎に比べて疾患の進行速度が早く、効果的な治療法も確立されていないため、臨床において大きな脅威となっている。本疾患は、インプラント周囲の細菌叢を構成する細菌種のバランスが崩れることが原因と考えられており、上部構造の清掃性や、歯周炎などの口腔内局所の状況が影響することが明らかとなっている。その一つとして、インプラント周囲における角化粘膜の有無がインプラント周囲炎の発生率と相関することが報告されている。しかし、インプラント周囲における角化粘膜の有無が細菌叢の構成菌種に影響している可能性はあるが、細菌学的な検討はなされていない。そこで本研究では、インプラント周囲に角化粘膜のない2症例において、インプラント周囲炎を伴わない2部位と伴った5部位に対して、遊離歯肉移植術 (FGG) を施し、治療前後におけるインプラント周囲細菌叢の変化を評価した。7本のインプラント周囲溝より治療前後でサンプルを採取し、高速シーケンサーにて細菌 DNA の塩基配列を取得し、細菌叢の構成細菌とその存在比率を門レベルで同定した。全ての部位で存在比率の上位を占めていたのは *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Bacteroidetes* であったが、治療前後で各部位の存在比率は異なっていた。また、同一口腔内でも、部位や炎症の有無によって細菌叢構成は異なっていた。骨吸収の顕著な部位において、術前では *Spirochaetes* の存在比率が高値を示したが、術後減少していた。さらに、同一口腔内にある4本のインプラントにおいて、術後一様に *Actinobacteria* が減少していた。以上のことから、インプラント周囲における角化粘膜の有無が、周囲細菌叢の構成菌種に影響を与えている可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

The dynamics of bacterial composition in peri-implant mucosa keratinized by free gingival grafting

○Shibasaki M¹, Shimogishi M¹, Watanabe T², Mrukawa E¹

¹Dept Regene Recon Dent Med, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Dept Chem, Nihon Univ Sch Dent

Although peri-implantitis is similar to periodontitis, it is a major threat because of the rapid progression of disease and the lack of an effective treatment. Peri-implantitis is thought to occur due to an imbalance of the peri-implant microbiota, and to be influenced by local conditions such as the cleanability of superstructure and periodontitis. It has been pointed out that the existence of keratinized mucosa (KM) correlates with the incidence of peri-implantitis. However, the effect of KM on the composition of peri-implant microbiota remains unknown. Therefore, we investigated the dynamics of peri-implant microbiota before and after free gingival graft (FGG). We collected 7 peri-implant samples from two patients lacking KM. Bacterial DNA was processed to high-throughput sequencing analysis and the bacterial composition in phylum level was predicted. The most dominating phyla were *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, and *Bacteroidetes* in all samples. However, their abundance was diverse according to implant position and disease severity, and was altered after FGG. In the implants with advanced bone resorption, high abundance of *Spirochaetes* was found preoperatively, which decreased after surgery. *Actinobacteria* reduced abundance after surgery for all samples from one patient. These results suggest that the existence of KM may influence the bacterial composition.

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

2-P1-P23 ヒト口腔関連培養細胞における Dectin-1 の役割

○猪俣 恵¹, 坂上 宏², 大森 喜弘¹

¹明海大 歯 微生物, ²明海大 歯 歯科医学総合研

口腔内で最も多く存在する真菌として *Candida albicans* が挙げられる。 *C. albicans* の細胞壁には(1→3)-β-D-グルカンが含まれている。β-グルカンに結合し真菌の認識に関わる膜タンパク質として Dectin-1 が同定されている。Dectin-1 の欠損マウスは *C. albicans* 等の真菌に対して易感染性となることから、真菌に対する感染防御に重要な役割を果たしていると考えられている。しかしながら、ヒト口腔関連培養細胞における Dectin-1 の役割は十分に明らかにされていない。本研究では、ヒト口腔培養細胞での Dectin-1 の発現や Dectin-1 を介した同細胞への影響を調べた。

Dectin-1 がヒト口腔細胞に発現しているのかどうかを歯肉線維芽細胞、歯根膜線維芽細胞、口腔扁平上皮癌細胞ならびに歯肉扁平上皮癌細胞に着目してウェスタンブロッティングによって調べた。Dectin-1 はすべての細胞において発現していた。歯肉線維芽細胞および歯根膜線維芽細胞において zymosan (β-グルカンに富む Dectin-1 のリガント) の影響をリアルタイム PCR で調べた。Zymosan はケモカインである interleukin (IL)-8, サイトカインである IL-1β, IL-6 や IL-17A の発現を誘導した。また zymosan は抗菌ペプチドβ-defensin 1 の発現を誘導した。Zymosan によるこれらの発現誘導は Dectin-1 阻害剤であるラミナリンによって抑制された。

得られた結果より、口腔領域において真菌のβ-グルカンが露出した状況下では、Dectin-1 がβ-グルカンを認識し感染防御に関与すると考えられた。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Role of Dectin-1 in human cultured cells of oral cavity

○Inomata M¹, Sakagami H², Ohmori Y¹

¹Div Microbiol, Meikai Univ Sch Dent, ²Meikai Univ Sch Res Inst Odontol (M-RIO)

Candida albicans is the most abundant fungus in the oral cavity. The cell walls of fungi such as *C. albicans* contain (1-3)-beta-D-glucan. Dectin-1 has been identified as a membrane protein that binds to beta-glucan and is involved in fungal recognition. However, the role of Dectin-1 in human oral cells has not been fully elucidated. In this study, we investigated the expression of Dectin-1 in human cultured oral cells and the effect of Dectin-1 mediated stimulation on the cells. We examined whether Dectin-1 is expressed in human gingival fibroblasts (HGFs), human periodontal ligament fibroblasts (HPLFs), human oral squamous cell carcinoma cells, and human gingival carcinoma cells by using immunostaining. Dectin-1 was expressed in all kinds of cells. Zymosan (a ligand of Dectin-1) induced the expression of interleukin (IL)-8, IL-1beta, IL-6, and IL-17A in HGFs and HPLFs. Zymosan also induced the expression of the antibacterial peptide beta-defensin 1. The induction of expression by zymosan was suppressed by the Dectin-1 inhibitor laminarin. These results suggest that Dectin-1 plays an important role in host defense in the oral cavity.

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

2-P1-P24 口腔内細菌脂質成分の自然免疫活性化能の解析

○豊永 憲司¹, 永尾 潤一^{1,2}, 岸川 咲吏¹, 田中 芳彦^{1,2}

¹福歯大 機能生物 感染生物, ²福歯大 口腔医学セ

免疫応答において重要な役割を担うマクロファージや樹状細胞といった骨髄系細胞には、病原体センサーとして様々な自然免疫受容体が発現している。これらの受容体は、病原体関連分子パターンを介して病原体を認識することから、パターン認識受容体とも呼ばれ、Toll 様受容体や NOD 様受容体、RIG-I 様受容体などがよく知られている。そのリガンドは、病原体特有のタンパク質や核酸、糖鎖など多岐にわたるが、近年になって、糖脂質などの脂質成分を認識する受容体群の存在も明らかとなってきた。一方で、口腔内には、歯周病やう蝕の原因となる様々な病原微生物が存在することが知られているが、これらの病原微生物が宿主免疫を介して病態形成に至る機構には不明な点が多い。例えば、歯周病の代表的な原因細菌として知られる *Porphyromonas gingivalis* は、Toll 様受容体のリガンドである LPS の活性が他のグラム陰性菌と比べて低いことや、自身の持つタンパク質分解酵素を介した宿主免疫回避機構を有することが報告されており、免疫応答活性化の詳細な機構はよく分かっていない。そこで我々は、宿主免疫活性化を誘導する候補成分として、これまであまり解析されてこなかった口腔内細菌の脂質成分に着目した。クロロホルムなどの有機溶媒を用いて菌体から脂質成分を抽出し、薄層クロマトグラフィーによる生化学的な解析を行なった。本演題では、口腔内細菌の脂質成分や、その自然免疫活性化能について議論したい。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Analysis of immunostimulatory activity of lipid component from oral bacteria

○Toyonaga K¹, Nagao J^{1,2}, Kishikawa S¹, Tanaka Y^{1,2}

¹Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, ²Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll

Macrophages and dendritic cells, which play important roles in the immune response, express various innate immune receptors to detect pathogens. These receptors are also called pattern recognition receptors (PRRs) because they recognize pathogens through pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). Toll-like receptors, NOD-like receptors, and RIG-I-like receptors are well-known PRRs that recognize various ligands such as pathogen specific proteins, nucleic acids, and sugar chains. In recent years, a PRR family that recognizes bacterial lipid components such as glycolipids has also been reported. On the other hand, although various pathogens that cause periodontal disease and dental caries are found in the oral cavity, their immunostimulatory activities and host receptors have not yet been fully determined. For example, *Porphyromonas gingivalis*, known as a typical causative agent of periodontal disease, has been reported to have a lower activity of LPS, a ligand for Toll-like receptor, than other Gram-negative bacteria. It has also been reported that this bacterium has host immune evasion strategies mediated by its own proteolytic enzyme. Therefore, we focused on the lipid component of oral bacteria as a candidate(s) for innate immune activation. In this presentation, I would like to introduce the lipid components of oral bacteria and their immunostimulatory activities.

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

2-P1-P25 歯周病発症を制御する免疫制御機構の解明

○永尾 潤一^{1,2}, 岸川 咲吏¹, 豊永 憲司¹, 根来 (安松) 香奈江¹, 田崎 園子¹,
田中 芳彦^{1,2}

¹福歯大 機能生物 感染生物, ²福歯大 口腔医学セ

歯周病は口腔内のデンタルプラーク中の歯周病原細菌による感染症で、歯の喪失の最も大きな原因となる。歯周病の病態形成にはサイトカイン IL-17 産生を特徴とする Th17 細胞による宿主の免疫応答が関与し、歯槽骨の吸収を誘導することで病態を増悪化させることが分かってきている。しかしながら、歯周病の病態形成に関わる Th17 細胞の分化を誘導する抗原や責任 Th17 細胞の T 細胞受容体など、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、*P. gingivalis* 感染によるマウス歯周病モデルを構築している。構築したマウス歯周病モデルにおいて、IL-17 の中和抗体および Th17 細胞の転写因子のアンタゴニストを投与した結果、歯周病の病態形成が抑制されることを明らかにした。これらのことから、構築したマウス歯周病モデルにおいて、IL-17 および Th17 細胞が重要であることが示唆された。さらに、マウス歯周病モデルを基盤とし、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析したので報告する。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Investigation of immune regulatory mechanism controlling the development of periodontitis

○Nagao J^{1,2}, Kishikawa S¹, Toyonaga K¹, Negoro-Yasumatsu K¹, Tasaki S¹, Tanaka Y^{1,2}

¹Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, ²Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll

Periodontitis is an infectious disease caused by periodontal bacteria in the oral cavity and is the most common cause of tooth loss. The pathogenesis of periodontitis is mediated by host immune response, especially IL-17-producing Th17 cells. However, the immune regulatory mechanisms involved in the pathogenesis of periodontitis are not well understood. We have developed a mouse model of periodontitis infected by *Porphyromonas gingivalis* which is highly associated with periodontal disease. Based on the mouse model of periodontitis, we focused on the T-cell antigens of *P. gingivalis* and the T-cell receptor of responsible Th17 cells to clarify the regulatory mechanism of Th17 cells in the pathogenesis of periodontitis.

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

2-P1-P26 歯周病原性細菌 *Fusobacterium nucleatum* 接種による大腸に及ぼす影響

○戸田みゆき¹, 小林 良喜², 河野 哲朗³, 渡辺 新³, 玉村 亮³, 泉福 英信², 岡田 裕之³

¹日大 院松戸歯, ²日大松戸歯 感染免疫, ³日大松戸歯 組織

ヒトの口腔内には700種を超える常在菌叢を形成している。口腔常在菌の中でも歯周病原性細菌が有する病原因子は宿主の免疫応答のバランスを乱すことで歯周病に進展すると考えられる。歯周病は歯周組織の炎症のみならず、慢性化により糖尿病、アルツハイマー型認知症、関節リウマチやアテローム型動脈硬化症などの全身疾患の増悪化させるリスクファクターとして認識されている。歯周病原性細菌の1つに *Fusobacterium nucleatum* (Fn) がある。近年、Fnは大腸癌の病変から検出され、病態形成に影響を与えていると考えられているが、Fnによる腸管に及ぼす影響については不明である。本研究は、これらを解明するためにFnによる腸管に及ぼす影響について検討を行った。5%カルボキシメチルセルロース溶液 (CMC) に懸濁させたFnをBALB/cマウスの口腔内に15日間連続接種 (Fn群) し、最終口腔内接種から1日後 (Day1) 及び30日後 (Day30) に腸管及び糞便を採取し、ELISA法にて糞便中のTotal IgA抗体量及び蛍光免疫染色法にて大腸内単核細胞の動態を検討した。対照 (Sham) 群にはCMCのみを接種した。Fn群の糞便中のIgAの抗体量は、Day30で増加していた。蛍光免疫染色法により、Day1に近位側及び遠位側の大腸粘膜下固有層にてB220+B細胞が増加していた。Day30では、近位側の腸管関連リンパ組織 (結腸リンパ節) で粘膜上皮側から基底膜側への偏位が認められた。さらに、F4/80+-マクロファージがDay1では大腸近位側の粘膜下固有層に集積していることがSham群と比較して認められた。これらの結果から、Fnの口腔連続接種は大腸における粘膜免疫応答に影響を与える可能性があるとし唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effect of *Fusobacterium nucleatum* on the intestinal immune system in the murine model

○Toda M¹, Kobayashi R², Kono T³, Watanabe A³, Tamamura R³, Senpuku H², Okada H³

¹Nihon Univ Grad Sch Dent at Matsudo, ²Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ³Dept Histol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

Periodontitis is thought to be caused by an imbalance between periodontal bacteria and the host's immune response. It has been reported that it is a risk factor for the onset and exacerbation of systemic diseases such as diabetes, Alzheimer's disease, rheumatoid arthritis, and atherosclerosis. Recently, *Fusobacterium nucleatum* (Fn) has attention to its potential impact on the pathogenesis of colorectal cancer. However, the effect of Fn on the intestinal tract is unknown. In this study, we investigated the effect of Fn on the intestinal tract. Fn was orally and continually inoculated into BALB/c mice (Fn group) for 15 days. Intestinal tracts were examined one (Day1) and 30 days (Day30) after oral inoculation by ELISA and fluorescent immunohistochemistry. The amount of IgA antibodies in the feces of the Fn group was increased on Day 30 compared with Sham. Further, fluorescence immunostaining showed that B220+B cells increased proximally and distally in the clonic patches on Day 1. In addition, F4/80+ macrophages in the Fn group accumulated proximally in the lamina propria of the Large intestine on Day 1. These results suggest that oral and continuous inoculation of Fn may affect immune responses in the Large intestine in mice.

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

2-P1-P27 マウス刺激脾細胞の IL-10 産生におよぼすミダゾラムの効果

○神谷 真子¹, 高山 英次², 川木 晴美², 梅村 直己², 上野 恭平², 高橋 萌³,
智原 栄一⁴, 村松 泰徳³, 近藤 信夫²

¹朝日大 営 化学, ²朝日大 歯 口腔生化, ³朝日大 歯 口外, ⁴朝日大 保 総合医科

【目的】我々は *in vitro* 刺激培養系を用いて、鎮静薬の一つであるミダゾラムがマウス脾細胞の Th1 サイトカイン、IFN- γ の産生能を温存し、Th2 サイトカイン、IL-10 産生能のみを阻害することを明らかにしてきた。本研究では、ミダゾラムの免疫改変作用をより詳細に解析するため、ミダゾラム投与のタイミングおよびベンゾジアゼピン (BZP) 受容体拮抗薬の添加がマウス脾細胞の IL-10 産生に与える影響を検討した。【方法】マウスから単離した脾細胞に、抗 CD3 ϵ 抗体を用いて T リンパ球特異的受容体刺激を施し、37°C、5% CO₂ 存在下にて 48 時間培養した。脾細胞の IL-10 産生能は刺激培養後の上清を回収し IL-10 濃度を ELISA 法にて測定し算出した。ミダゾラムの投与効果は、「刺激培養の前」あるいは「刺激後一定時間のみ」に本薬剤 5 μ g/mL で脾細胞を処理した場合、および「刺激培養中 48 時間継続的」にミダゾラムを作用させた場合の IL-10 産生量を、対照群 (ミダゾラム未処理の脾細胞) と比較検討した。BZP 受容体拮抗薬はミダゾラム投与 1 時間前に培養系に添加しその影響を観察した。【結果と考察】ミダゾラムで 4 時間前処置された脾細胞は対照群と同程度の IL-10 産生能を有しており 8 時間の前処置で対照群の約 70% 程度に低下した。しかしこの前処置の効果は、刺激培養中継続的にミダゾラムを作用させた場合の低下 (15%) に比較すると極めて弱かった。さらに、脾細胞は抗 CD3 抗体刺激後 6 時間まではミダゾラム共存下で培養された場合も、対照群と同等の IL-10 産生能を維持していた。一方、1.5~75 μ M 範囲の BZP 受容体拮抗薬フルマゼニルの添加はミダゾラムの IL-10 産生抑制効果を阻害しなかった。以上の結果から、1) ミダゾラムの IL-10 産生抑制効果は可逆的で刺激培養の早期までに本薬剤を除去することでその抑制効果の顕在化を防ぐことができること、2) ミダゾラムの作用は中枢型 BZP 受容体を介さないものである可能性が指摘できた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effect of midazolam on the IL-10 production in stimulated mouse splenocytes

○Kamiya M¹, Takayama E², Kawaki H², Umemura N², Ueno K², Takahashi M³, Chihara E⁴,
Muramastu Y³, Kondoh N²

¹Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin, ²Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, ³Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent, ⁴Dept Gen Med, Asahi Univ Sch Health Sci

We have reported that midazolam suppressed the IL-10-production from T lymphocyte specific receptor-stimulated splenocytes *in vitro*, but it hardly suppressed the production of IFN- γ . In this study, in order to analyze the immunomodulatory effect of midazolam in more detail, the effects of the timing of midazolam administration and the addition of benzodiazepine (BZP) receptor antagonists on IL-10 production from mouse splenocytes were investigated. Splenocytes preincubated with midazolam for 4 hours, had the same IL-10-producing capability as the control (midazolam-untreated splenocytes), and the production decreased a little (to about 70% of the control group) after 8 hours of preincubation. In addition, splenocytes showed the same IL-10-producing ability as the control when they were cultured with midazolam for up to 6 hours after stimulation by anti-CD3 antibody. On the other hand, the BZP receptor antagonist flumazenil (1.5 to 75 microM) did not inhibit the effect of midazolam. These results suggest that the suppressive effect of midazolam on IL-10 production is reversible, and removal of this drug in the early stage of the culture eliminated the effect. In addition, the action of midazolam may not be mediated through the central BZP receptor.

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

2-P1-P28 マウス舌癌モデルにおける Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) の浸潤に関わるケモカインの検討

○森 一将¹, 廣井 美紀², 松本 安吏¹, 牛尾 亮介¹, 大森 喜弘²

¹明海大 歯 口腔顎顔面外科, ²明海大 歯 微生物

【目的】 Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) は、頭頸部扁平上皮癌においても浸潤が認められているが、口腔潜在的悪性疾患から癌病変へ移行過程における MDSCs の浸潤と関連するケモカインの発現は未だ不明な点が多い。今回演者らは、発癌物質 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) を用いたマウス舌癌モデルを用いて口腔潜在的悪性疾患である上皮異形成から癌病変への過程における Gr-1 (LY-6G) 陽性 MDSCs の浸潤とケモカイン発現の関連について検討した。【方法および結果】 1. 化学発癌物質によるマウス舌白斑症、扁平上皮癌モデルの作製 6-12 週齢の C57BL/6 マウスを用い、飲料水中に DNA 傷害剤 4NQO を添加、16 週間連続経口投与し、その後通常飲料水に変えさらに 12 週飼育した。舌病理組織学的検討から 16 週後の舌に hyperplasia, mild dysplasia, 28 週後に mild および moderate dysplasia, squamous cell carcinoma の病変形成が認められた。2. マウス舌組織から total RNA を調製し、ケモカイン遺伝子 Ccl3, Ccl4, Cxcl3 および Cxcl5 の動態をリアルタイム RT-PCR により検討した。その結果、Ccl3, Ccl4 の発現は 16 週マウスと比較し 28 週マウスは有意に増加が認められた。Cxcl3, Cxcl5 の発現も増加傾向が認められた。3. Gr-1 + MDSCs の浸潤を免疫組織学的に検討した結果、Gr-1 + MDSCs は 4NQO 投与 28 週マウスにおいて対照群マウスと比較して有意な増加を認めた ($p < 0.0001$)。また 4NQO 投与 16 週マウスと比較し 28 週マウスにおいて有意な増加が見られた ($p = 0.003$)。4. Gr-1 + MDSCs の浸潤とケモカイン遺伝子を解析した結果、Gr-1 + MDSCs と Ccl3, Ccl4, Cxcl3, および Cxcl5 との間に有意な正の相関関係を認めた。【考察】 発癌物質 4NQO によるマウス前癌病変から扁平上皮癌への進行に伴い、ケモカイン Ccl3, Ccl4, Cxcl3 および Cxcl5 の発現が上昇し、Gr-1 + MDSCs の誘導および局所への浸潤を促している可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Investigation of chemokines involved in the infiltration of myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) in the mouse tongue cancer model

○Mori K¹, Hiroi M², Matsumoto A¹, Ushio R¹, Ohmori Y²

¹Div Oral Maxillofac Surg Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent, ²Div Microbiol and Immunol, Dept Oral Biol Tissue Eng, Meikai Univ Sch of Dent

Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) infiltration of MDSCs has been observed in head and neck squamous cell carcinomas, the expression of chemokines associated with MDSC infiltration during the transition from potentially malignant oral disorders to cancerous lesions remains unclear. In this study, we investigated the relationship between chemokine expression and the infiltration of Gr-1 (LY-6G)-positive MDSCs during transition from epithelial dysplasia to a cancerous lesion in a mouse tongue cancer model using the carcinogen 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO). The results analyzed by real-time RT-PCR showed that the expressions of Ccl3 and Ccl4 were significantly higher in the tongue tissue from mice treated with 4NQO for 28 weeks compared to those from mice treated for 16 weeks. Immunohistochemical examination showed that the infiltration of Gr-1 + MDSCs was also significantly higher in the mice treated for 28 weeks. Significant positive correlations between Gr-1 + MDSCs and Ccl3, Ccl4, Cxcl3, and Cxcl5 were observed, suggesting that the expression of chemokines Ccl3, Ccl4, Cxcl3, and Cxcl5 was upregulated during progression from a potentially malignant oral disorder to a squamous cell carcinoma in mice treated with the carcinogen 4NQO, and that the upregulation of these chemokines promote the infiltration of Gr-1 + MDSCs.

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

2-P1-P29 THP-1 細胞のプライミングによる歯周病原細菌の LPS に対する応答性の変化と LPS 認識プラットフォームの遺伝子発現変化の解析

○片岡 嗣雄, 森 大気, 引頭 毅

朝日大 歯 口腔微生物

【目的】歯周病原細菌のリポ多糖 (LPS) は炎症や破骨細胞活性化を誘導する主要な病原因子として知られている。宿主細胞による LPS の認識には、細胞表面では Toll-like receptor (TLR) 4 を中心とするプラットフォーム、また細胞内ではインフラマソーム活性化をもたらす NLRP3 を中心とするプラットフォームならびにインターフェロン誘導性の Guanylate-binding proteins (GBPs) を主体とするプラットフォームの 3 系統が使用される。本研究では、ヒト単球系細胞株 THP-1 を用い、異なる因子でプライミングすることにより歯周病原細菌の LPS に対する応答性や LPS 認識プラットフォームの遺伝子発現が変化することを見出したので報告する。【方法】LPS は *Fusobacterium nucleatum* ATCC25586 から抽出した。THP-1 を細菌由来合成リポペプチド (Pam3CSK4), IL-17A または IFN- γ で 24 時間プライミングした後に LPS で刺激し、産生された IL-1 β を ELISA で定量して応答性を評価した。LPS 認識プラットフォーム構成分子の遺伝子発現はリアルタイム PCR にて評価した。【結果と考察】プライミングしていない THP-1 は LPS に対して応答性を示さなかった。各種因子でプライミングした THP-1 は TLR4 の遺伝子発現が増加し、また応答性が増強された。特に IFN- γ によるプライミングでは GBPs や Caspase 4 の発現が大きく増加し、応答性も大きく増強されていた。以上より、プライミングにより LPS 認識プラットフォームの遺伝子発現が誘導されて LPS への応答性は変化するが、特に IFN- γ は、GBPs を主体とする LPS 認識プラットフォームの発現を強く誘導し、LPS への応答性を増強する効果が高いことが明らかになった。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Analysis of changes in responsiveness to periodontopathic bacterial LPS and gene expression of LPS-recognizing platforms by priming of THP-1 cells

○Kataoka H, Mori T, Into T

Dept Oral Microbiol Div Oral Infect Health Sci, Asahi Univ Sch Dent

[Purpose] Periodontopathic bacterial lipopolysaccharide (LPS) is a pathogenic factor that induces inflammation and osteoclast activation. Host cells use three LPS-recognizing systems, a TLR4-associated platform in the cell surface, and inflammasome-activating systems in the cytosol, an NLRP3-associated platform and a platform of the interferon (IFN)-regulated factor Guanylate-binding proteins (GBPs). We here report that priming of a human monocytic THP-1 cells by different stimuli varies responsiveness against LPS and gene expression levels of LPS-recognizing platforms. [Materials & Methods] LPS were extracted from *Fusobacterium nucleatum* ATCC25586. Cellular responsiveness was estimated by quantification of IL-1 β in culture supernatants of LPS-stimulated THP-1 cells primed with Pam3CSK4, IL-17A or IFN- γ . Expression levels of LPS-recognizing platforms were measured by real-time RT-PCR. [Results & Discussion] Non-primed THP-1 cells did not respond to LPS. Priming of cells changed responsiveness against LPS and increased the levels of TLR4. In particular, IFN- γ priming significantly increased the levels of GBPs and CASP4, and strongly enhanced responsiveness against LPS. Thus, priming of THP-1 cells changes responsiveness against LPS through changes in expression levels of LPS-recognizing platforms. Particularly, IFN- γ priming has a dynamic effect on changing the responsiveness and expression of the GBP platform.

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

2-P1-P30 歯周病関連疾患の解明を目的とした歯周病モデルマウスの確立

○小林 良喜, 瀧澤 智美, 齋藤 真規, 桑原 紀子, 泉福 英信

日大松戸歯 感染免疫

近年、歯周炎が動脈硬化性疾患、糖尿病、アルツハイマー型認知症、低体重児の早期出産など全身疾患を増悪させるリスクファクターとして注目されている。歯周病の発症は歯周病原性細菌が有する様々な病原因子が宿主の免疫応答を攪乱することで惹起され、慢性化することで歯周組織のみならず全身の各臓器の病態形成に関与すると考えられる。歯周病関連全身疾患の発症機序を解明するには生体内で歯周組織から波及する炎症マーカーや免疫細胞動態を把握するために病態モデルマウスが必要である。そこで、我々は歯周病モデルマウスを作製し、生体内において炎症マーカーや免疫細胞動態の解明を試みた。5%カルボキシメチルセルロース溶液(CMC)に懸濁させた歯周病原性細菌 *Porphyromonas gingivalis* もしくは *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* を BALB/c マウスの口腔内に 15 日間連続接種させた。対照として CMC のみを同様に接種させた。口腔内接種後、歯肉組織中に炎症性サイトカインの産生を誘導された。さらに歯槽骨の水平的骨吸収や、RANKL/OPG 比の増大や TRAP 染色により破骨細胞の活性・誘導を認めた。歯周組織における免疫応答を検討したところ、CD11b⁺マクロファージ様細胞や、RANKL⁺CD4⁺T 細胞が対照群に比べて増加していることが認められた。さらに、腸管のエフェクター T 細胞の構成が変化するなど腸管免疫応答に影響することが認められました。以上の結果から、我々が確立した歯周病モデルは歯周病原性細菌が歯周組織だけでなく腸管の免疫細胞にも影響を与えることが示され、歯周病関連全身疾患の解明に有益である。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Analysis of a periodontal disease mouse model to elucidate periodontal-related diseases

○Kobayashi R, Takizawa K, Saito M, Kuwahara N, Senpuku H

Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

Recently, periodontitis has been attending as a risk factor for exacerbating systemic diseases. The pathogenesis of the periodontal disease is triggered by various pathogenic factors of periodontopathogenic bacteria that disrupt the host's immune response. Further, the chronicity of a periodontal disease contributes to the disease onset of periodontal tissues and various organs of the body. Therefore, to elucidate the pathogenesis of periodontal-related systemic diseases, an appropriate pathological model is needed to understand inflammatory markers and immune cells' dynamics. When BALB/s mice were orally inoculated with the *Porphyromonas gingivalis* or *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, they induced the production of inflammatory cytokines in the gingival tissue. In addition, a significant reduction of alveolar bone resorption, increased RANKL/OPG ratio, and induction of osteoclasts from TRAP staining were also detected in these mice. Moreover, CD11b⁺ macrophage-like cells and RANKL⁺CD4⁺ T cells were increased compared to the control. Furthermore, we found that the intestinal immune response was affected, including changes in the composition of effector T cells. Taken together, this murine model can be used to evaluate the dynamics of immune cells in periodontal tissues and intestines. It may also be beneficial in elucidating systemic diseases related to periodontal disease.

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

2-P1-P31 SARS-CoV-2 のエンター分子の口腔内の局在について

○坂口和歌子¹, 猿田 樹理², 山本 裕子³, 槻木 恵一¹

¹神歯大 環境病理, ²神歯大 教育企画, ³神歯大短期大 歯科衛生

コロナウイルス 2 (SARS-CoV-2) によるコロナウイルス感染症 2019 (COVID-19) は, 世界的に流行している新興感染症です. 口腔は病原体の重要な侵入口で, SARS-CoV-2 は唾液中に検出されることから, COVID-19 の PCR 検査に唾液サンプルを使用することが試みられており, 関連する研究では口腔と唾液に大きな関心が寄せられている. しかし, 口腔内と COVID-19 の関連性についての基礎研究はほとんど行われていない. コロナウイルス 2 (SARS-CoV-2) の受容体であるアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2), 膜貫通型プロテアーゼセリン 2 (TMPRSS2), そして Furin, これらは SARS-CoV-2 感染の決定因子として, ウイルスの宿主細胞への侵入を促進し, 感染を決定づけている. 舌背, 歯肉, 唾液, 舌苔のサンプルを用いて口腔内にこれらの分子が存在するかどうかを調べた. 免疫組織化学的分析では, ACE2 が舌背と歯肉の層状扁平上皮に発現していた. TMPRSS2 は角質化した表層の重層扁平上皮に強く発現しており, 唾液や舌苔からも検出された. Furin は主に角質層の下層に局在し, 唾液には検出されたが, 舌苔には検出されなかった. 味蕾由来の培養細胞では, ACE2, TMPRSS2, および furin の mRNA が発現しており, 免疫蛍光法による観察結果と同様であった. これらのデータは, SARS-CoV-2 の感染に不可欠な分子が口腔内に豊富に存在することを示している. しかし, データベース解析の結果, 唾液にも唾液中にもプロテアーゼ阻害剤が多く含まれていることがわかった. したがって, SARS-CoV-2 の侵入経路は口腔であると考えられるが, 唾液中のプロテアーゼ阻害剤など, ウイルスの侵入を阻害する他の要因も考慮する必要がある.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Existence of SARS-CoV-2 entry molecules in the oral cavity

○Sakaguchi W¹, Saruta J², Yamamoto Y³, Tsukinoki K¹

¹Dept Env Pathol, Kanagawa Dent Univ, ²Dept Educ Planning, Kanagawa Dent Univ, ³Dept Dent Hygiene, Kanagawa Dent Univ Junior Coll

The severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) receptor, angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), transmembrane protease serine 2 (TMPRSS2), and furin, which promote entry of the virus into the host cell, have been identified as determinants of SARS-CoV-2 infection. Dorsal tongue and gingiva, saliva, and tongue coating samples were examined to determine the presence of these molecules in the oral cavity. Immunohistochemical analyses showed that ACE2 was expressed in the stratified squamous epithelium of the dorsal tongue and gingiva. TMPRSS2 was strongly expressed in stratified squamous epithelium in the keratinized surface layer and detected in the saliva and tongue coating samples via Western blot. Furin was localized mainly in the lower layer of stratified squamous epithelium and detected in the saliva but not tongue coating. ACE2, TMPRSS2, and furin mRNA expression was observed in taste bud-derived cultured cells, which was similar to the immunofluorescence observations. These data showed that essential molecules for SARS-CoV-2 infection were abundant in the oral cavity. However, the database analysis showed that saliva also contains many protease inhibitors. Therefore, although the oral cavity may be the entry route for SARS-CoV-2, other factors including protease inhibitors in the saliva that inhibit viral entry should be considered.

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

2-P1-P32 デスモゾーム構成因子 Plakophilin 1 は核内移行シグナルを介して細胞増殖を制御する

○宮崎佳奈子¹, 吉崎 恵悟¹, 傅 堯¹, 鮎田 啓太¹, 湯田 智美¹, 田 甜¹,
水田 敢士¹, 川原 純平¹, 福本 敏², 高橋 一郎¹

¹九大 院歯 矯正, ²九大 院歯 小児口腔

我々はこれまでの研究で、デスモゾーム構成因子である Plakophilin 1 (PKP1) は歯の発生の進行に伴い、その局在を核から細胞膜へと移行させ、密着結合構成因子 ZO-1 と結合することを示してきた。しかしながら、PKP1 の核内局在機構は未だ十分に明らかとなっていない。そこで本研究では、その分子機能の解明を目的として以下の解析を行った。マウス歯胚および歯原性上皮細胞株 M3H1 を用いて免疫染色法を行ったところ、PKP1 はエナメル芽細胞分化期に ZO-1 と共に細胞間接着部位の頂端側で共局在した。さらに免疫沈降法および液体クロマトグラフ質量分析において両分子の結合を確認した。次に、CRISPR/Cas9 システムを用いて ZO-1 遺伝子欠損 (KO) 細胞株を樹立し、解析を行った。ZO-1 KO 細胞株において、PKP1 の局在が細胞膜から核内へと変化し、細胞増殖が上昇した。PKP1 は核内以降シグナル配列 (NLS) を有しており、NLS が細胞内移行に重要である可能性が考えられる。そこで NLS に変異を導入した PKP1 発現ベクターを作製し、強制発現させたところ、PKP1 の核内移行が抑制された。同時に、免疫沈降法にて核移行タンパクである importin との結合を認めたため PKP1 が NLS を介して核内へ移行している可能性が示唆された。さらに、PKP1 はその構造に armadillo repeat domain を有しており、核内において TCF/LEF を介した c-Myc の転写調節に関与している可能性がある。そこで、luciferase assay にて c-Myc の転写活性を確認したところ、ZO-1 KO 細胞株で転写活性が上昇し、この上昇は Pkp1 siRNA にて抑制された。以上の結果から、PKP1 の NLS を介した核内への移行が c-Myc の発現に影響を与え、細胞増殖を調節している可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Desmosomal protein Plakophilin 1 translocates into nucleus via its nuclear localization signal and regulates cell proliferation

○Miyazaki K¹, Yoshizaki K¹, Fu Y¹, Funada K¹, Yuta T¹, Tian T¹, Mizuta K¹, Kawahara J¹,
Fukumoto S², Takahashi I¹

¹Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

In our previous study, we have identified that the desmosome protein Plakophilin 1 (PKP1) shifts its localization from the nucleus to the cell membrane and binds to the tight junction protein ZO-1 during dental epithelial development. However, the nuclear translocation mechanism of PKP1 is not fully understood. To clarify it, the following analysis was performed. In mice tooth and dental epithelial cell line M3H1, we identified that PKP1 co-localized with ZO-1 in the apical end of plasma membrane using confocal Z-stack analysis, immunoprecipitation (IP) and Liquid Chromatography–Mass spectrometry. Using CRISPR/Cas9 system, we constructed ZO-1 deficient M3H1 cells (KO). We found that PKP1 showed nuclear translocation and upregulated proliferation in ZO-1 KO cells. For further analysis, we generated constructs mutated in nuclear localization signal (NLS) of PKP1 and found that the nuclear localization of PKP1 was inhibited. Moreover, IP assay showed that PKP1 bounds to importin, a key transports protein molecule. We also identified that the luciferase activity of c-Myc was increased in ZO-1 KO cells and the increment was inhibited by Pkp1 siRNA. These data suggest that PKP1 translocates into nucleus via its NLS and affects proliferation by regulating c-Myc expression.

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

2-P1-P33 体内の栄養状態を反映したマウス味細胞における mechanistic target of rapamycin (mTOR) 活性化

○高井 信吾¹, 岩田 周介^{1,2}, 實松 敬介^{1,2,3}, 重村 憲徳^{1,2}

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, ³九大 OBT 研究セ

mechanistic target of rapamycin (mTOR) は様々な臓器で細胞分裂や生存において重要な働きを持つセリンスレオニンキナーゼである。mTOR の活性は、インスリン等の成長因子や、糖、アミノ酸等の栄養因子の情報を反映し、細胞の成長と代謝を調節している。近年、腸管では、上皮幹細胞の分化・増殖活性に mTOR 経路が関係していることが明らかとなってきている。味蕾は腸管と同じ上皮幹細胞から発生し、素早いターンオーバーを繰り返しながらも組織恒常性を維持しているが、その分化・増殖の調節機構には不明な点が多い。本研究では、マウス味蕾における mTOR 発現に着目し、その機能探索を試みた。まず、in situ hybridization の結果、mTOR の mRNA は、有郭乳頭部で味蕾を含む上皮と乳頭基底部に強く発現していることがわかった。味蕾幹細胞を採取し 3 次元培養を行う味蕾オルガノイドを用いた実験系では、培地中にラパマイシン (mTORC1 阻害剤) を添加すると、その濃度依存的に味細胞の増殖および各種味細胞マーカー mRNA 発現の有意な増加が見られた。mTOR は p70 S6K (S6 キナーゼ) を直接リン酸化することでタンパク質合成や細胞増殖を促す。マウスを用いた実験では、24 時間の絶食後、2 時間の給餌を行うと、一部の有郭乳頭味細胞および味蕾基底部の細胞で強い S6 キナーゼのリン酸化が観察された。この時、リン酸化が見られた細胞の数は、再給餌を行わないマウスに比べて有意に多かった。また、この給餌による味蕾の mTOR 経路の活性化はラパマイシンの事前投与でほぼ完全に消失した。以上の結果から、味蕾内の一部の細胞は体内の栄養状態を感知し、mTOR を活性ダイナミックに変化させていること、また、この mTOR 活性化が味細胞の分化・増殖に関与する可能性が示唆された。**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

Feeding-dependent activation of mechanistic target of rapamycin (mTOR) in mouse taste bud cells

○Takai S¹, Iwata S^{1,2}, Sanematsu K^{1,2,3}, Shigemura N^{1,2}

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

Mechanistic target of rapamycin (mTOR) is a serine-threonine kinase that plays important role in the regulation of cell growth. mTOR activity reflects various biological cues, including growth or nutritional factors. In this study, we focused on the mTOR expression in mouse taste buds and explored its function. In situ hybridization showed that mTOR mRNA was strongly expressed in the mice circumvallate papillae (CV), mainly in the basal area. In the 3-dimensional taste bud stem cell culture (taste bud organoid), the application of rapamycin (mTORC1 inhibitor) significantly increased the mRNA expression of taste cell markers in a concentration-dependent manner. In mice experiments, after 24 hours of food deprivation and 2 hours of re-feeding strongly activated mTOR pathway in some taste bud cells. And this activation was almost completely abolished by pre-administration of rapamycin. These results suggest that some taste bud cells sense the internal nutritional status and change mTOR activity, and this signaling pathway may be related to taste cell proliferation or differentiation.

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

2-P1-P34 多血小板フィブリン(PRF)適応時における歯肉組織再生過程の解析

○劉 宇豪¹, 東 雅啓¹, 高橋 聡子², 高橋 俊介³, 松尾 雅斗¹

¹神歯大 院歯 口腔解剖, ²神歯大 院歯 口腔生理, ³神歯大 院歯 歯科薬理

Induction of gingival tissue regeneration by Platelet-Rich Fibrin

○Liu YH¹, To M¹, Takahashi S², Takahashi SS³, Matsuo M¹

¹Dept Oral Anat, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ²Dept Oral Physiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ³Dept Pharmacol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

Purpose: Platelet-Rich Fibrin (PRF) is widely used for wound healing because it contains many growth factors, such as vascular endothelial growth factor (VEGF). It is a safe and beneficial therapeutic agent for bone formation. We have previously reported on microcirculation during alveolar bone regeneration by PRF. In this study, we investigated the effects of PRF on regeneration process in gingival tissue in the early stage after tooth extraction. Material and Method: Under general anesthesia, blood was collected from each beagle dog (female, 12 months old) before tooth extractions to prepare PRF. Four (first-fourth) premolars were extracted bilaterally in the upper and lower jaws. The right extraction socket was filled with PRF and sutured as the experimental group, the opposite side just extracting the tooth and sutured as the control group. All animals were sacrificed by perfusion-fixation at 1, 3, and 7 days after the operation. The upper jaws were prepared to HE stain and immunostained stain (with CD34 and VEGF) for observed with an optical microscope. The lower jaws were prepared for the mandible and observed with a scanning electron microscope (SEM). Blood flow in the gingiva was measured using a laser Doppler blood flow meter before surgery and sampling. Result and Conclusion: In PRF group, a large number of microvessel was observed in the gingival tissue on the first day after surgery. In contrast, the microvessel in the control group was sparse. Blood flow in the gingiva was significantly higher in the PRF group than before surgery. In the vascular resin cast observation by SEM, a large number of new blood vessels were found on the first day of the PRF group, in concordance with the findings in HE staining. In immunohistochemistry, CD34 showed more positive reaction around blood vessels in the PRF group than the control group. In VEGF, a strong positive reaction was observed in the perivascular tissue in the PRF group on the first day after surgery. Our results showed that PRF has promote the angiogenesis in the gingiva by inducing VEGF expression. Thus, PRF is one of the useful materials for soft tissue regeneration.

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

2-P1-P35 ヒト iPS 細胞より分化した副甲状腺細胞の同定と過形成メカニズムへのアプローチ

○中塚 隆介, 野崎 中成

大歯大 薬理

副甲状腺は骨の代謝に重要な臓器であるが, *in vitro* での副甲状腺細胞の維持培養が実現していない。そのため, 副甲状腺過形成などの副甲状腺疾患における治療法や医薬品の開発が進展してこなかった。一方で, 多能性幹細胞からの副甲状腺細胞分化誘導については, 分化誘導した副甲状腺細胞の同定を可能にする誘導法の確立には至っていない。今回, ヒト iPS 細胞からの副甲状腺細胞分化誘導法の開発と, 分化した副甲状腺細胞の同定を試みた。ヒト iPS 細胞を副甲状腺および胸腺の共通祖先である第三咽頭弓に分化誘導し, その後 Sonic hedgehog による刺激により副甲状腺細胞を成熟分化させる分化誘導法を試みた。この分化誘導法では, 各発生段階に応じた分化マーカーの発現が確認され, *in vitro* において発生期の分化系譜に沿った副甲状腺誘導が行われていることが確認された。培養中の細胞の免疫蛍光染色により, 分化誘導過程で形成される特異な細胞塊に副甲状腺ホルモン (PTH) を産生する細胞が存在することが明らかとなった。さらに, カルシウム感受性受容体 (CaSR) と上皮細胞接着分子 (EpCAM) を発現する細胞が分化誘導された副甲状腺細胞であることが明らかとなった。以上より, iPS 細胞から副甲状腺の分化・成熟過程を *in vitro* で再現した分化誘導法を確立することに成功した。さらに, 分化誘導した副甲状腺細胞は生体組織でみられるような細胞塊として存在しており, 副甲状腺特異的なマーカー分子を発現していることを明らかにした。また, 副甲状腺過形成の要因と考えられる TGF- α の刺激により, CaSR と EpCAM 共陽性細胞は増加し, 一方 EGFR のインヒビターである Erlotinib によって抑制された。これらの結果から, *in vitro* においても TGF- α /EGFR シグナルが副甲状腺の過形成を促進することが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

The induction of parathyroid cell differentiation from human iPS cells and approach to the mechanism of parathyroid hyperplasia

○Nakatsuka R, Nozaki T

Dept Pharmacol, Osaka Dent Univ

Parathyroid gland is required for bone metabolism. Because establishment of cultivation method for physiological human parathyroid cells and differentiation method of parathyroid cells from pluripotent stem cells are still uncertain, it has been hard to elucidate onset mechanisms for parathyroid disorder such as hyperparathyroidism. In this study, we accomplished development of a new differentiation method for parathyroid cells from human induced pluripotent stem (iPS) cells. Using this method, parathyroid cell differentiation occurred in accordance with embryologic development. The differentiated cells which expressed parathyroid hormone were in the unique cell aggregation like parathyroid gland. Moreover, these differentiated cells were identified as calcium-sensing receptor (CaSR)/epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) double-positive cells. Interestingly, stimulation of transforming growth factor- α (TGF- α), which is considered a causative molecule for parathyroid hyperplasia, increased CaSR/EpCAM double-positive cells, while it was suppressed by Erlotinib which is epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitor. These results suggest that TGF- α /EGFR signal promotes parathyroid cell differentiation from iPS cells with a similar manner to parathyroid hyperplasia.

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

2-P1-P36 TGF β 3 ノックアウトマウスにおける EGFR 阻害剤投与による MAPK のリン酸化と口蓋裂の表現型の変化

○杉山 明子, 滝川 俊也

朝日大 歯 口腔解剖

【目的】口蓋突起は、左右の口蓋突起の先端が接触し、上皮性縫合を形成した後、上皮性縫合が消失して癒合する。TGF β 3 KO マウスでは上皮性縫合の形成や消失が起こらず、口蓋裂が発症する。EGF の作用は TGF β 3 の作用と拮抗すると考えられる。今回、TGF β 3 KO マウスに EGFR に対する阻害剤を投与し、口蓋裂表現型の変化とシグナル伝達分子の活性に与える影響との関係を調べることを目的とした。【方法】C57BL/6J 系統の妊娠 TGF β 3 KO マウスに EGFR 阻害剤を投与し、胎児を取り出して、口蓋裂の表現型と遺伝子型を調べた。また、EGFR 阻害剤投与群と対照群の胎児の口蓋組織からタンパク質を抽出して口蓋突起の癒合と関係するシグナル伝達分子のリン酸化状態をウェスタンブロットで解析した。【結果】EGFR 阻害剤の投与により C57BL/6J 系統マウスの TGF β 3 KO 胎児の完全口蓋裂が不完全口蓋裂に軽症化する例が見いだされた。TGF β 3 KO 胎児の口蓋では野生型と比較して Erk1/2 と p38 のリン酸化は有意に低かった。さらに、EGFR 阻害剤投与群では Erk1/2 と p38 のリン酸化は有意に増加したほか、Smad2 のリン酸化も増加していた。【考察】TGF β 3 は口蓋突起癒合の責任遺伝子であること、その作用は Smad2 の活性化を介することが多くの先行研究で示されてきた。しかし、MAPK 経路と Smad 経路はクロストークしており、MAPK は Smad の活性化に影響を与えることも知られている。今回の研究結果から、TGF β 3 KO マウスにおいて、EGFR 阻害剤の投与により MAPK が活性化され、その活性化された MAPK がクロストークを介して Smad2 を活性化することにより、TGF β 3 非依存性に口蓋の部分的な癒合を引き起こしたと考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Correlation of MAPK-phosphorylation and change of cleft palate phenotypes caused by administration of an EGFR inhibitor in TGF β 3 knockout mice

○Sugiyama A, Takigawa T

Dept Oral Anat Div Oral Struct, Funct Dev, Asahi Univ Sch Dent

[PURPOSE] During fusion of palatal shelves, palatal medial edges make a contact with each other, and form midline epithelial seam, followed by its disappearance to fuse. C57BL/6J TGF β 3 KO mice develop complete cleft palate due to the deficiency of seam-formation and persistence of medial edge epithelia. EGF is known to function antagonistically to TGF β 3 in palatal fusion. We administered EGFR inhibitor to TGF β 3 KO mice and examined the correlation between changes of the cleft phenotype and several signal transductions of the palates. [MATERIALS & METHODS] We administered an EGFR inhibitor to C57BL/6J TGF β 3 KO mice and examined their phenotypes. In addition, protein samples were extracted from the palatal tissues, and analyzed whether phosphorylation levels of several signal transduction molecules affected by Western blotting. [RESULTS & CONCLUSION] The several palates among TGF β 3 KO fetuses could be rescued from complete cleft to incomplete cleft. Phosphorylated Erk1/2 and p38 of TGF β 3-deficient palates were significantly low when compared with those of wild-type palates. Administration of EGFR inhibitor significantly increased the phosphorylated Erk1/2 and p38 in TGF β 3-deficient palates. Our study suggested that MAPK can activate Smad2-phosphorylation via crosstalk of each pathway so that TGF β 3 KO palates can partially fuse independently of TGF β 3.

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

2-P1-P37 バルプロ酸曝露ラット胎仔における頭部神経堤細胞(NCC)の形成と移動の攪乱は、脳神経ネットワークの形成異常に寄与している～発達障害に随伴する食の困難の一因か？～

○鈴木 礼子¹, 今井 元²

¹奥羽大 歯 歯科薬理, ²奥羽大 歯 生物

【目的】抗てんかん薬・気分安定薬として汎用されるバルプロ酸(VPA)には、胎児の先天奇形と発達障害誘発のリスクがある。発達障害には、臨床的に種々の感覚異常や食の困難が随伴することが知られており、動物実験でも、VPA投与による自閉症モデルラットにおいて顔面神経の発生異常が生じることが報告されている。VPAには、ヒストン脱アセチル化酵素が関与する遺伝子の転写抑制に対する非特異的な阻害作用があるため、VPAによる先天奇形を伴う摂食・嚥下障害は、頭部NCCの形成や移動を制御する遺伝子発現の攪乱による可能性が高い。そこで、本研究では、ラット母獣に時期特異的にVPAを投与し、頭部NCCの動態を解析することを目的とした。

【材料と方法】SDラットの母獣(胎齢(E)9.4:頭部神経堤形成期)を用いて、実験群にはVPAを、対照群には生理食塩水を単回投与した。その後、セボフルラン麻酔下で母獣から胎仔を摘出し、E9.75における頭部NCCの脱上皮化、細胞追跡実験を行い、E9.75-E12.75における発生関連因子の発現などをwhole mountの*in situ*ハイブリダイゼーション/免疫染色などを用いて検証した。

【結果】VPA投与群では、中脳後方から後脳前方で脱上皮化する神経堤の細胞/抗slug抗体陽性細胞が減少し、その移動も阻害された。一方、後脳後方で神経堤の脱上皮化は阻害されず、本来より頭方の第1鰓弓/前頭鼻隆起まで移動した。さらに、*Hoxa2*発現細胞も、本来より頭方の前頭鼻隆起/第1鰓弓で観察され、軸索伸長とそのガイダンス因子の発現にも異変を生じた。

【結論】これらの結果から、発達障害に随伴する食の困難の一因として、頭部NCCの形成と移動の攪乱、及び、その結果として生じた摂食・嚥下に関わる脳神経の機能的ネットワークの形成異常があることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Disrupted formation/migration of cranial NCCs contributes to dysplasia of functional neural network, suggesting to effect disordered feeding behavior with DD

○Suzuki R¹, Imai H²

¹Div Dent Pharmacol, Ohu Univ Sch Dent, ²Div Biol, Ohu Univ Sch Dent

Valproic acid (VPA) has the risks of teratogenicity and developmental disability (DD). DD is known to be associated with disordered feeding behavior. Since VPA is a nonspecific inhibitor of histone deacetylase, it is highly probable that dysphagia with congenital malformations by VPA is attributed to disturbance of gene expression related to formation/migration of cranial neural crest cells (NCCs). Therefore, VPA was administered to the maternal rats and the behavior of the cranial NCCs at the embryonic stage was analyzed. In the VPA-administered group, epithelial-mesenchymal transition (EMT) of the neural crest was suppressed from posterior midbrain to rhombomere (R) 1/2, and the numbers of NCCs migrating from these regions to the first branchial arch (Ba1) were reduced. On the other hand, EMT was not inhibited in R4, and the NCCs from R4 moved to Ba1 and front nasal mass (FNM). In addition, *Hoxa2*-expressing cells were also observed in Ba1 and FNM, and axon elongation and its guidance factor expression were also altered. In conclusion, these results suggest that dysplasia of functional neural network due to disrupted formation/migration of cranial NCCs contributes to disordered feeding behavior with DD.

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

2-P2-P38 NFAT5 は高浸透圧下において EGFR の細胞内局在を変化させて口腔扁平上皮癌の進展を促進する

○吉本 尚平^{1,2}, 平田 雅人², 橋本 修一¹

¹福歯大 病態構造, ²福歯大 口腔医学研究セ

口腔扁平上皮癌には上皮成長因子受容体 (Epidermal Growth Factor Receptor;EGFR) が高発現しており, 口腔癌の分子標的治療における重要な標的の一つである. 一方, 癌微小環境下では慢性的な炎症状態による浸透圧上昇が起こっていると考えられているが, 高浸透圧と癌増殖との関連の詳細については不明である. 我々は, ヒト口腔扁平上皮癌細胞株 (HSC-3) において, マンニトール添加による高浸透圧刺激により活性化された転写因子 Nuclear Factor of Activated T-cells 5 (NFAT5) が EGFR の細胞質から細胞膜への移行を惹起し, EGFR シグナル伝達系を活性化することで HSC-3 細胞の増殖を促進することを見出した. さらに, 浸透圧上昇に伴って, 糖鎖修飾に関わる酵素 Dolichol phosphate-dependent N-acetylglucosamine 1-phospho-transferase (DPAGT1) の発現上昇と, NFAT5 の DPAGT1 プロモーター領域への結合がみられたことから, 浸透圧上昇に伴う NFAT5 依存的な EGFR の細胞膜移行には小胞体での EGFR に対する糖鎖修飾が関わっていることが示唆された. また, ヒト舌扁平上皮癌症例における免疫組織化学的発現解析では, 癌の分化度が低くなるにつれて NFAT5 発現が亢進していた. ノードマウスへ移植した HSC-3 細胞に対する高浸透圧腫瘍刺激実験モデルにおいても, 高浸透圧刺激が移植腫瘍細胞の増大に寄与している結果が得られた. 以上より, ヒト口腔扁平上皮癌における癌微小環境下では, 浸透圧亢進による NFAT5 の発現・活性化が, 糖鎖修飾を介した EGFR の細胞質から細胞膜への移行を惹起し, EGFR シグナル伝達系を活性化することで癌細胞増殖を促進していると考えられた.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

NFAT5 promotes OSCC progression in the hyper-osmotic condition through the EGFR subcellular translocation

○Yoshimoto S^{1,2}, Hirata M², Hashimoto S¹

¹Div Pathol, Fukuoka Dent Coll, ²Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll

EGFR is highly expressed in oral squamous cell carcinomas (OSCCs), then, EGF/EGFR signaling is recognized as one of the important molecular targets in cancer therapies. In the tumor microenvironment, tumor usually incites inflammation and the inflammation-derived cytokines make a considerable impact on cancer development. In this condition, hyper-osmolarity is also induced but the role of the osmotic stress for the cancer progression has not been fully understood. In this study, we clarified one of the essential mechanisms of NFAT5, a key transcription factor in hyper-osmolarity, on the OSCC cells in the hyper-osmotic condition by in vitro and in vivo studies. We finally concluded that in OSCC cells in the hyper-osmotic condition, NFAT5 induced EGFR glycosylation through the activation of DPAGT1, an essential enzyme for the N-linked protein glycosylation, and the consecutive EGFR subcellular translocation from the endoplasmic reticulum to the plasma membrane was occurred, which finally enhanced the progression of OSCC cells.

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

2-P2-P39 低接着性培養による口腔癌スフェロイド形成と3次元形態・免疫表現型の解析

○工藤 朝雄, 埴 太宥, 川本沙也華, 佐藤かおり, 田谷 雄二, 添野 雄一
日歯大 生命歯 病理

【目的】 スフェロイド (Sph) 培養法では *in vivo* に近似した性質を示す細胞集塊が得られる。本研究では、口腔癌細胞株の Sph 形成における低接着性素材上での分化、極性、表現型について3次元形態解析/免疫表現型解析により評価した。

【方法】 性質の異なるヒト口腔扁平上皮癌由来細胞株として、間質誘導能の高い OSC-19, EMT 様形質をもつ OSC-20 を対象とし、二種類の市販の低接着性培養プレートと 10% FBS 添加維持培地を使用して1~5日間培養した。得られた口腔癌 Sph を免疫染色に供し、光学顕微鏡・共焦点レーザー蛍光顕微鏡を用いて2次元的・3次元的な Sph 形状および表現型マーカー局在を観察した。

【結果と考察】 OSC-19 はいずれの培養基材においても比較的大型の集塊 (OSC-19-Sph) を形成したが、OSC-19-Sph の多くは球形を維持できず円板状~お椀型を呈した。一方、OSC-20 は培養プレート面への接着傾向が強く Sph 形成率は低かったものの、形成された集塊 (OSC-20-Sph) は OSC-19-Sph 同様にお椀型を呈した。E-cadherin 発現は OSC-19-Sph と比べ OSC-20-Sph でやや高く、表層部での接着傾向は弱かった。OSC-20 培養では Cytokeratin/Vimentin 二重陽性細胞をみるが、OSC-20-Sph において二重陽性細胞の極性は認められなかった。同様に、浸潤・転移能の指標となる CD44 発現、増殖活性の指標となる Ki-67 陽性細胞の局在にも極性はみられず、両細胞株で差は認められなかった。ただし、細胞間接着や表現型の成立と破綻のバランスは培養基材ごとに僅かに異なっており、低接着環境と癌細胞形質の組み合わせが重要と考えられた。本研究は JSPS 科研費 #19K10346, 21K10053 の助成を受けた。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Three-dimensional morphological and immunohistochemical analyses in oral cancer spheroids grown on low-attachment culture devices

○Kudo T, Hani T, Kawamoto S, Sato K, Taya Y, Soeno Y
Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

Objectives: Spheroid culture provides cell clumps with properties similar to those *in vivo*. In this study, we performed spheroid formation of oral cancer cell lines on low-attachment materials and evaluated the differentiation, polarity, and phenotypes using morphological and immunohistochemical analyses.

Materials & Methods: Oral cancer cell lines, OSC-19 (high stromal inducibility) and OSC-20 (EMT-like traits), were cultured on low-attachment culture devices in 10% FBS-containing medium for 1 to 5 days. The obtained spheroids (Sph) were subjected to immunostaining, and two-dimensional and three-dimensional observation.

Results & Discussion: OSC-19 exhibited disc- or bowl-shaped agglomerates (OSC-19-Sph), while OSC-20 tended to adhere to the bottom of the plate. Only a few agglomerates (OSC-20-Sph) showed a bowl-like shape. E-cadherin expression was slightly higher in OSC-20-Sph than in OSC-19-Sph. In OSC-20 culture, Cytokeratin/Vimentin double-positive cells were observed, but no polarity of the double-positive cells was found in OSC-20-Sph. Specific feature was hardly found in the expression of CD44 and the localization of Ki-67-positive proliferating cells in both cell lines. The balance between cell-cell adhesion and phenotypes was slightly different in each culture condition, suggesting the combination of low-attachment environment and cancer cell phenotypes was important. Supported by JSPS KAKENHI Grant number 19K10346 and 21K10053.

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

2-P2-P40 中国産プロポリスによる抗 CD3 刺激脾細胞のサイトカイン産生の調節

○安藤 恵¹, 神谷 真子², 池野久美子³, 上野 恭平¹, 梅村 直己¹, 高山 英治¹,
川木 晴美¹, 中村源次郎³, 近藤 信夫¹

¹朝日大 歯 口腔生化, ²朝日大 経営 経営, ³(株)秋田屋本店 研究開発

中国産プロポリス (CP) は, 多くの植物由来フラボノイドを含み抗炎症作用, 抗菌作用, 抗腫瘍作用を持つことから, 古くから民間療法などに用いられてきたが, 免疫系にどのような影響を及ぼすのか作用の実態について詳細な検討は成されていない. 我々は, マウス抗 CD3 抗体刺激脾細胞のサイトカイン産生能に対する CP の作用を検討した. その結果, 処理後 48 時間の刺激脾細胞の viability を低下させない希釈濃度の CP により, IL-2 産生は顕著に, IL-4 は有意に促進されるのに対して, IFN- γ , IL-6 産生は抑制され, 一方, および IL-10 産生に有意な変化は見られなかった. CP の主要成分の一つであるカフェイン酸フェネチルエステル (CAPE, 12.5 μ M) を添加すると上記とほぼ同様のサイトカイン産生の変化が観察され, この物質が CP によるサイトカイン制御の中心的役割を担うことが示唆された. CAPE は, NF- κ B の関わるさまざまな炎症反応を抑制することが既に知られているが, IL-2 は直接的に濾胞性ヘルパー (Tfh) 細胞, Th17 細胞や, DN T 細胞を抑制し, 制御性 T (Treg) 細胞を促進するなど, 自己免疫疾患の制御に重要な役割を果たすことが明らかになりつつある. 従って, CAPE が IL-2 や, IL-4 のような Th2 サイトカインを介する系でも免疫系の制御を行う可能性が考えられる. 現在, CAPE による刺激脾細胞のサイトカイン発現調節が, 転写, 翻訳, 分泌レベルでどのように調節されているのか, それらに対する CAPE の受容体タンパク質や阻害物質に対する感受性等を含め, 発現制御機構の解明を進めている.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Regulation of cytokine production from anti CD3-stimulated mouse spleen cells by Chinese propolis

○Ando M¹, Kamiya M², Ikeno K³, Ueno K¹, Umemura N¹, Takayama E¹, Kawaki H¹,
Nakamura G³, Kondoh N¹

¹Dept Oral Biochem Div Oral Struct, Funct Dev Asahi Univ Sch Dent, ²Dept Business Admin Asahi Univ Sch Management, ³AKITAYAHONTEN CO., LTD. R&D Department

Chinese propolis (CP) is a chemical complex exerting anti-inflammatory, anti-septic and tumoricidal effects in, e.g. folk remedies. However, the details how the components regulate systemic immune systems are not well understood. In this study, we attempt to examine the effects of CP and the major component upon cytokine productions of anti CD3-antibody-stimulated murine spleen cells. Our results demonstrated the production of IL-2 was markedly and IL-4 was significantly enhanced, by contrast, the production of IFN- γ and IL-6 were markedly reduced, while, the production of IL-10 was not significantly affected in the highly viable stimulated spleen cells treated with CP for 48 hours. These effects were also reproduced in the cells treated with caffeic acid phenethyl ester (CAPE) 12.5 μ , a major component of BP. Recently, it has been reported that IL-2 directly prevents the T follicular helper cells (Tfh), T helper 17 cells (Th17), and double negative (DN) T cell response and bolstering Treg function. Therefore, CAPE may affect immunosuppression via IL-2 function. We are now investigating underlying mechanisms of how the CAPE exerts the pleiotropic regulations upon cytokines in activated T cells.

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

2-P2-P41 口腔扁平上皮癌細胞に対する DNA メチル化転移酵素阻害剤とヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の併用処理による細胞傷害作用

○牛尾 亮介^{1,2}, 廣井 美紀², 松本 安吏^{1,2}, 森 一将^{1,2}, 大森 喜弘²

¹明海大 歯 口腔顎顔面外科, ²明海大 歯 微生物

【目的】細胞のがん化は、遺伝子変異や染色体転座などのゲノム異常と DNA のメチル化やヒストンタンパク質のメチル化、アセチル化などの修飾により起こるエピゲノム異常が関与している。がん細胞の増殖やがん関連遺伝子の発現制御における DNA methyltransferase 阻害剤 (DNMTi), histone deacetylase 阻害剤 (HDACi) の単剤効果については検討されているが、口腔扁平上皮癌に対するこれら阻害剤の併用効果やその抗がん作用の分子機構については十分には明らかにはされていない。本研究では口腔扁平上皮癌細胞に対する DNMTi と HDACi の併用処理による細胞傷害作用とその分子機構について検討を行った。【材料および方法】ヒト口腔扁平上皮癌細胞株 HSC-2, Ca9-22 に種々な濃度の DNMTi (5-Aza-dC, RG108), HDACi (TSA) を添加し、細胞生存率を測定した。DNA 損傷の指標としてヒストンバリエント H2A. X の Ser139 のリン酸化をウェスタンブロット法にて検討した。【結果】1) 5-Aza, TSA は、濃度依存的に HSC-2, Ca9-22 細胞の生存率を低下させた。2) 低濃度の 5-Aza と TSA との併用処理により生存率のさらなる低下が認められた。3) 5-Aza, TSA の単独処理により caspase 3/7 の活性化が認められたが、併用処理による増強は認められなかった。4) 一方、5-Aza, TSA の併用処理により H2A. X の Ser139 のリン酸化が認められた。【考察】5-Aza と TSA の併用処理による caspase 3/7 の活性化の増強効果は認められなかったことから、併用処理による生存率の低下は、アポトーシス単独によるものではないことが示唆された。一方、この併用処理により H2A. X Ser139 のリン酸化が認められたことから DNA 損傷により細胞周期が停止している可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Cytotoxic effects of combination treatment with DNA methyltransferase inhibitors and histone deacetylase inhibitors on human oral squamous cell carcinoma cells

○Ushio R^{1,2}, Hiroi M², Matsumoto A^{1,2}, Mori K^{1,2}, Ohmori Y²

¹Div Oral Maxillofac Surg Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent, ²Div Microbiol, Meikai Univ Sch Dent

Carcinogenesis involves genomic abnormalities and epigenomic alterations caused by DNA methylation and histone acetylation and methylation. The effects of DNA methyltransferase inhibitors (DNMTi) and histone deacetylase inhibitors (HDACi) on regulating cancer cell growth and cancer-related gene expression have been studied. However, the effect of combination treatment with DNMTi and HDACi on oral squamous cell carcinoma (OSCC) remains unclear. Here, we investigated the cytotoxic effects of combination DNMTi and HDACi treatment on OSCC cells and explored its molecular mechanism. Various concentrations of DNMTi (5-Aza-dC, RG108) and HDACi (TSA) were added to the OSCC cell lines HSC-2 and Ca9-22, and cell viability was measured. The phosphorylation of Ser139 in histone variant H2A. X (pSer139-H2A. X), as an indicator of DNA damage, was examined through western blotting. Combination treatment with low concentrations of 5-Aza-dC and TSA synergistically decreased cell viability. Treatment with 5-Aza-dC and TSA alone activated caspase 3/7, but the combination treatment did not enhance it. Conversely, enhanced pSer139-H2A. X was observed following combination treatment. These results suggested that the decrease in the survival rate associated with the combination treatment was not due to apoptosis alone and that cell cycle arrest caused by DNA damage resulted in the decreased cell viability.

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

2-P2-P42 YAP-PIEZO1 シグナルは口腔扁平上皮癌の細胞増殖を促進する

○長谷川佳那, 藤井 慎介, 清島 保

九大 院歯 口腔病理

腫瘍における細胞外基質の硬化等の変化が腫瘍形成を促進することが知られている。Hippo 経路は細胞外環境を感知し、遺伝子発現を介して腫瘍形成を制御する。Yes-associated protein (YAP) は Hippo 経路の転写共役因子であり、YAP シグナルの活性化は発癌や予後に影響を与える。口腔扁平上皮癌 (OSCC) における YAP シグナルの異常活性化について報告されているが、腫瘍形成における YAP シグナルの下流因子は不明である。一方、機械感受性カルシウムイオンチャネル PIEZO1 は発生期の形態形成に関与することが報告されているが、OSCC における発現およびその機能は不明であり、YAP との関係も明らかになっていない。そこで本研究では、OSCC において YAP による PIEZO1 の発現制御、そして、そのシグナルを介した細胞増殖に与える影響について検討した。その結果、浮遊培養法およびクロマチン免疫沈降法により、YAP シグナルが PIEZO1 の発現を制御することを見出した。また、複数の OSCC 細胞株において PIEZO1 は高発現し、その発現はアゴニスト依存的カルシウムイオンの細胞内流入に必要であった。加えて、三次元培養法にて PIEZO1 が YAP シグナルの下流で OSCC 細胞の増殖を制御した。さらに、ヒト OSCC 病理組織標本では腫瘍部に高頻度で YAP が核内に発現し、PIEZO1 ならびに Ki-67 と高頻度に共局在していた。これらの結果から、OSCC において、YAP シグナルの異常活性化が PIEZO1 の発現を介して細胞増殖を制御する可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

YAP-PIEZO1 axis promotes cell proliferation of oral squamous cell carcinoma

○Hasegawa K, Fujii S, Kiyoshima T

Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

It has been reported that increased extracellular matrix stiffness could promote tumorigenesis. The Hippo pathway responds to the extracellular environment and regulates tumorigenesis through the expression of target genes. Yes-associated protein (YAP), a major downstream effector of the Hippo pathway, is reportedly hyperactivated in oral squamous cell carcinoma (OSCC). However, downstream target genes of YAP signaling in OSCC tumorigenesis remain unclear. PIEZO1, a mechanosensitive ion channel, is reported to be associated with organ morphogenesis, but its expression and function in OSCC and the relationship between YAP and PIEZO1 in OSCC tumorigenesis are unknown. Therefore, we investigated the effect of YAP on the cell proliferation through PIEZO1 in OSCC cell lines. The experiments using suspension culture and chromatin immunoprecipitation demonstrated that YAP signaling regulated PIEZO1 expression. *PIEZO1* mRNA levels were elevated in OSCC cell lines, and its expression was required for PIEZO1 agonist-dependent Ca^{2+} influx. YAP signaling also regulated OSCC cell growth through PIEZO1 expression in 3D culture. In addition, YAP was frequently expressed in the nucleus in tumor lesion where PIEZO1 and Ki-67 expression were detected. These results suggest that hyperactivated YAP signaling promotes OSCC cell proliferation through PIEZO1 expression.

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

2-P2-P43 がん幹細胞と iPS

○畑 隆一郎¹, 居作 和人², 前畑洋次郎³

¹神歯大 院研究支援セ, ²神歯大 分子生物, ³神歯大 歯科薬理

【背景】ケモカイン CXCL14 を野生型マウス (C57/BL6) の 10 倍発現するトランスジェニックマウスを用いて, CXCL14 が発癌, 癌の増殖, 転移のすべての段階を抑制する多段階癌抑制分子であることを明らかにした (Hata, et al., Scientific Reports 2015, Yang, et al. Int. J. Mol. Sci. 2019). CXCL14 の腫瘍抑制の分子機構を明らかにするために, ヒト口腔癌細胞 (HSC-3) を用いて, CXCL14 遺伝子の導入,あるいは欠損が癌幹細胞 (CSC) マーカーの発現に及ぼす影響を検討し, CXCL14 の発現が CD44variant (v)3, 6, 9 などの癌幹細胞マーカーの発現を抑制する事を報告した. 【目的】今回は HSC-3 細胞に存在する CSC の量を類推するために HSC-3 細胞とヒト多能性幹 (iPS) 細胞を用いて, 幹細胞因子と癌幹細胞マーカー, および細胞接着因子の mRNA 発現量を定量して比較した. 【実験方法】HSC-3 細胞, および iPS 細胞 (HPS-0076/409B2) を iMatrix511 と共に播種し, StemFitAK02N で培養後, RNA を精製し, 幹細胞因子, 癌幹細胞マーカー, および接着因子の RNA 発現量を StepOnePlus で測定した. 【結果と考察】HSC-3 細胞における幹細胞因子の Oct3/4, Nanog の発現量は iPS 細胞の 1/100, Sox2 の発現量は 1/1,000 以下であった. 一方, Klf4 の発現量は HSC-3-細胞の方が高かった. さらに, HSC-3 細胞は癌幹細胞マーカーの CD44variant (v)3, CD44v6, および CD44v9 を高く発現していた. 正常幹細胞である iPS 細胞はヒアルロン酸受容体である CD44standard は少量発現していたが, 癌幹細胞マーカーの CD44variant (v)3, CD44v6, および CD44v9 は殆ど発現していなかった. さらに, 細胞接着分子のラミニン 511 とそのレセプターであるインテグリン ITGA6 と ITGB1 の発現は HSC-3 細胞の方が高い値を示した. このことは癌幹細胞がスフェロイド形成をし易いことと関係し, さらに, 癌幹細胞がニッチを離れても生存出来る可能性を示している.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

Cancer stem cells versus iPS cells

○Hata R¹, Izukuri K², Maehata Y³

¹Res Support Cent, Kanagawa Dent Sch, ²Dept Oral Biochem, Kanagawa Dent Sch, ³Dept Pharmacol, Kanagawa Dent Sch

[Purpose] In order to clarify molecular mechanisms of unique tumor suppressor activity of CXCL14, we measured expression levels of stem cell factors, cancer stem cell markers and cell adhesion molecules in HSC-3 cells and compared their levels of human induced pluripotent stem (iPS) cells. [Materials & Methods] HSC-3 cells, and iPS (HPS-0076/409B2) cells were separately mixed with iMatrix 511 and cultured in StemFitAK02N, and gene expression levels of stem cell markers including cancer stem cells markers were determined by RT-PCR after purification of RNAs. [Results and Discussion] Expression levels of stem cell factors such as Oct3/4, and Nanog were 100 times higher and in case of Sox2, 1,000 times higher in iPS cells than those of HSC-3 cells. HSC-3 cells expressed cancer stem cell markers such as CD44variant (v)3, CD44v6 and CD44v9. The iPS cells expressed a significant amount of CD44 standard, a hyaluronic acid receptor, but only a little amount of cancer stem cell markers. In case of cell adhesion molecules, HSC-3 cell expressed higher levels of laminin components, LAMA5, LAMB1 and LAMC1 mRNAs and their receptor integrins, ITGA6 and ITGB1, compared with those of iPS cells. The latter might be related with spheroid forming activity of cancer stem cells.

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

2-P2-P44 転写因子 TFAP2E は口腔癌細胞の細胞周期進行における G2/M 遷移の制御に関する

○藤原 恭子¹, 酒井 嶺³, 高橋 富久^{1,2}

¹日大 歯 解剖 I, ²日大 総歯研 機能形態, ³日大 院歯 応用口腔科学

Activator protein-2 転写因子ファミリーに属する TFAP2E は、様々な癌種において癌抑制遺伝子として機能していることが知られている。公共データベースを用いた解析では、口腔扁平上皮癌 (OSCC) 患者においても、腫瘍組織の TFAP2E 発現レベルが低い群は、高い群と比べて生存期間が短いことを確認した。TFAP2E が OSCC の発生・悪性を抑制する分子メカニズムを解明するために、我々は OSCC 由来細胞における TFAP2E の発現を強制的に変化させ、その効果について検討を行った。shRNA を用いて、歯肉癌由来細胞株 Ca9-22 における TFAP2E の発現を抑制したところ、その増殖速度がコントロール細胞と比べて有意に速くなることがわかった。そこで、増殖速度が変化する理由を探るため、二重チミジン法を用いて細胞を G1 期後期に同調させ、その後の細胞周期の進行を継時的に解析した。その結果、TFAP2E ノックダウン細胞では M 期からの脱出速度がコントロールと比べて明らかに速いことがわかった。一方、ノコダゾールを用いて細胞を G2/M 期に同調させてから解析を行った場合は、TFAP2E ノックダウン細胞とコントロールの間で細胞周期の進行速度に差がみられなかった。TFAP2E 過剰発現細胞についても G1 期後期からの細胞周期の進行速度を解析したところ、M 期からの脱出速度がコントロール細胞と比べて遅くなることがわかった。G2/M 期に同調させてから解析を行った場合には過剰発現細胞とコントロールの間には差がみられなかった。いずれの細胞においても、G1 期後期から S 期終了までの進行速度には大きな違いは見られなかったため、本研究の結果から TFAP2E は G2/M 期の進行を制御している可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Transcription factor TFAP2E is involved in the regulation of G2/M transition in oral squamous cell carcinoma

○Fujiwara K¹, Sakai R³, Takahashi T^{1,2}

¹Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent, ²Div Funct Morphol Dent Res Cent, Nihon Univ Sch Dent, ³Div Appl Oral Sci, Nihon Univ Grad Sch Dent

TFAP2E, which belongs to activator protein-2 transcription factor family, has been known to act as tumor suppressor in various cancer cells. Investigation based on public database demonstrated that lower expression level of TFAP2E was closely associated with shorter overall survival in the patients of oral squamous cell carcinoma (OSCC). To clarify the molecular mechanisms that TFAP2E suppress the development or progression of OSCC, we examined the effect of TFAP2E on a Ca9-22 cell line derived from human OSCC in gingiva. ShRNA-induced knockdown of TFAP2E in Ca9-22 cells resulted in higher growth rate than those in control cells. To analyze cell cycle progression rate, cells were synchronized to the late G1-phase by double-thymidine-block, and then conducted to the time-course FACS analysis. In this analysis, no difference was observed between the cells until the end of S-phase, however, TFAP2E-knockdown cells showed obviously fast M-phase exit. Meanwhile, no difference was observed between knockdown and control cells after release from synchronization to G2/M-phase by nocodazole treatment. Conversely Ca9-22 cells stably overexpressed TFAP2E showed the delay of M-phase exit, when they were synchronized to the late G1-phase. These findings indicated that TFAP2E has certain roles in the regulation of G2/M transition of cells.

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

2-P2-P45 CCN6 は口腔がん細胞の上皮間葉転換と破骨細胞形成を抑制する

○芳地 浩彰¹, 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 院医歯薬 歯先端研セ

口腔粘膜や舌表皮を原発巣とする口腔がんは、近接組織である顎骨に浸潤しやすいことがよく知られている。これには口腔がん細胞が上皮間葉転換 (EMT) によって運動性を獲得することと骨破壊を促す破骨細胞を活性化させる必要がある。しかし、EMT と破骨細胞形成を共に制御する分子は未だ明らかにされていない。我々は、EMT と破骨細胞形成を制御する分子を探索するため、上皮系細胞の表現型を有するヒト口腔がん細胞株 HSC2 と上皮系細胞と間葉系細胞の表現型を有する HSC3 細胞を比較し、HSC2 細胞が Cellular Communication Network factor 6 (CCN6) を高産生していることを明らかにした。そこで、EMT に影響を与える Bone morphogenetic protein 2 (BMP2) と CCN6 タンパク質を HSC3 細胞に添加したところ、上皮系マーカーである E-cadherin の産生量は CCN6 と BMP2 の両方で増加し、間葉系マーカーである Vimentin の産生量は減少した。また、興味深いことに、CCN6 と BMP2 を同時に添加すると、E-cadherin の産生量はさらに増加した。これらの結果から、我々は CCN6 と BMP2 間に分子間相互作用があると考え、IP-Western blot 法で調べた結果、予想通りに CCN6 は BMP2 と結合した。一方、骨吸収を担う破骨細胞の形成における CCN6 の作用を解析したところ、CCN6 は RANKL によって誘導される破骨細胞の形成を抑制した。さらに、我々は、CCN6 が RANKL とも結合することを IP-Western blot 法で示した。これらの結果は、CCN6 が BMP2 と協調して EMT を抑制すること、また、RANKL とも結合して破骨細胞形成を抑制することを示唆している。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

CCN6 suppresses epithelial-mesenchymal transition of oral cancer cells and osteoclast formation

○Hochi H¹, Nishida T^{1,2}, Takigawa M², Kubota S¹

¹Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ²ARCOCS, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

It is well-known that oral cancer cells invade the bone in the jaw. In order to invade the bone, oral cancer cells need to acquire the ability of migration by epithelial-mesenchymal transition (EMT) and activate osteoclast formation. However, it is still unknown which molecule regulates both EMT and osteoclast formation. Therefore, we compared human squamous carcinoma (HSC) 2 cells, which retain the phenotype of epithelial cells, with HSC3, which have the phenotype of both epithelial and mesenchymal cells, and demonstrated that more cellular communication network factor (CCN) 6 was produced by HSC2 cells than HSC3 cells. Moreover, we indicated that CCN6 increased E-cadherin production, which is a marker of epithelial cells, and decreased vimentin, which is a marker of mesenchymal cells, like bone morphogenetic protein (BMP) 2 that negatively regulates EMT. Interestingly, combination of CCN6 and BMP2 increased E-cadherin production more than CCN6 or BMP2 alone. Furthermore, we demonstrated that CCN6 interacted with BMP2 by IP-Western blotting. Next, we tested whether CCN6 affects RANKL-induced osteoclast formation, and we found that CCN6 suppressed osteoclast formation possibly by interacting with RANKL. These findings suggest that CCN6 suppresses EMT and osteoclast formation via cooperation with BMP2 and via interfering with RANKL, respectively.

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

2-P2-P46 EGFR 過剰発現唾液腺癌に対する新しい光免疫療法

○山口 晴香, 森田 貴雄

日歯大新潟 生化

近年、光増感剤 (IR700Dye) とモノクローナル抗体を用いた新規のがん治療法である近赤外光免疫療法 (Near-infrared Photoimmunotherapy) が注目されている。近赤外光免疫療法は、モノクローナル抗体に IR700Dye を結合させたコンジュゲートが細胞表面に到達した際に波長 700nm の近赤外光を照射する方法で、近赤外光によって IR700Dye を活性化し、ターゲットとなる癌細胞の細胞膜のみに穴をあけてネクロシスを引き起こす。この現象による正常細胞への影響はない。私達は、モノクローナル抗体の代わりに、抗体小分子である Affibody (6-7 kDa) を用いて EGFR 過剰発現唾液腺癌に対する近赤外光免疫療法を行った。Affibody はサイズが小さいため、EGFR Affibody-IR700Dye コンジュゲートは、唾液腺癌の深部に効率的に到達すると考えられる。その後、光ファイバーを用いて近赤外光を照射すれば、ほぼすべての癌細胞を死滅させることが出来ると期待される。私達の培養細胞を用いた実験では、EGFR Affibody-IR700Dye コンジュゲートを使用した光免疫療法で EGFR 発現の無いコントロール細胞 (MCF-7) に損傷を与えることなく、EGFR 過剰発現の唾液腺癌細胞 (HSY, A253, WR21) を選択的にネクロシスさせた。また、高濃度の EGFR Affibody-IR700Dye コンジュゲートのみによる処理、または高線量の近赤外光の照射のみでは、細胞生存率に影響を与えなかった。Affibody と IR700Dye は既に臨床で使用されているため、臨床応用できる可能性は十分にある。Affibody を使用した光免疫療法は、唾液腺の機能を保ったまま、唾液腺がん細胞のみを効率的に死滅させる新しい治療法となる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

New Near-infrared photoimmunotherapy for EGFR over expressing salivary gland cancer

○Yamaguchi H, Morita T

Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata

Near-infrared photoimmunotherapy (NIR-PIT) is a new and promising cancer therapy based on a monoclonal antibody conjugated to a photosensitizer (IR700Dye) which is activated by near-infrared light irradiation, causing necrotic cell death. We investigated NIR-PIT using a small protein mimetic (6-7 kDa), Affibody molecules, instead of a monoclonal antibody for EGFR-overexpressing salivary gland cancer. Due to the small size of the Affibodies, EGFR Affibody-IR700Dye conjugate can reach deep area of salivary gland cancer, which means that almost all cancer cells are specifically given necrotic cell death. In vitro, NIR-PIT using EGFR Affibody-IR700Dye conjugates induced the selective destruction of EGFR-overexpressing salivary gland cancer cells without damage to control cells having low expression of EGFR. EGFR-overexpressing cancer cells showed necrotic cell death. In contrast, treatment with high concentration of EGFR Affibody-IR700Dye conjugate alone or irradiation with high dose of NIR light alone was without effect on cell viability. Affibody and IR700Dye are currently used clinically and therefore, we expect that the new NIR-PIT using Affibody is able to treat salivary gland cancer and also keep the function of salivary glands to product saliva.

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

2-P2-P47 (取り下げ / **withdrawn**)

2-P2-P48 血管発生におけるグリシン二相性効果に關与するシグナル伝達経路

○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】我々は、アミノ酸の一種であるグリシンが、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すことを報告している (BBRC, 2020, vol. 527, p. 539-544)。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作用する。本研究では、このグリシンの二相性効果における、PI3K/Akt/mTOR シグナルの役割を解析した。【方法】血管特異的に蛍光蛋白質を発現するゼブラフィッシュの胚を、低・高用量のグリシンに暴露し、さらにPI3K 阻害剤 (LY29400), Akt 阻害剤 (Akt inhibitor), mTOR 阻害剤 (rapamycin, everolimus, KU0063794) を投与後、血管発生への影響を観察した。【結果】各阻害剤は、低用量グリシンの血管形成促進効果を抑制する一方、高用量グリシンの血管形成抑制効果を増強させた。また、血管新生に關与する VEGF と NOS の発現変化は、グリシンと mTOR 阻害剤による血管作用に一致していた。【考察】血管形成におけるグリシンの用量依存的二相性効果に、PI3K/Akt/mTOR シグナルが關与することが示された。mTOR シグナルは癌血管新生治療の標的として知られている。mTOR 阻害剤とグリシンを組み合わせることで、より強力な抗血管新生効果が得られる可能性がある。(BBRC, 2020, vol. 529, p. 596-602) 【会員外共同研究者】藤田深里 (神奈川大学)

【利益相反】利益相反状態にはありません。

PI3K/Akt/mTOR signaling interacts with dose-dependent biphasic effects of glycine on vascular development

○Tsuji-Tamura K, Sato M, Tamura M

Dept Oral Biochem Mol Biol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Objective: We recently reported that glycine, a non-essential amino acid, exerts dose-dependent biphasic effects on vascular development of zebrafish embryos (BBRC, 2020, vol. 527, p. 539-544). Low-doses of glycine increased angiogenesis, whereas high-doses glycine caused anti-angiogenic effects. PI3K/Akt/mTOR signaling regulates angiogenesis of both physiological and pathological angiogenesis. Thus, we examined whether this signaling pathway is involved in the biphasic effects of glycine on vascular development. Methods: Fluorescent transgenic zebrafish Tg (fli1a:Myr-mCherry) embryos were used for analysis of vascular development. The effects of inhibitors of mTORC1 (rapamycin and everolimus), mTORC1/mTORC2 (KU0063794), PI3K (LY29400), and Akt (Akt inhibitor) were investigated in zebrafish embryos in the presence of a low or high-dose of glycine. Results: These inhibitors blocked angiogenesis induced by a low-dose of glycine, while promoted anti-angiogenesis by a high-dose of glycine. Furthermore, expressions of vegf (an angiogenic factor) and nos (an enzyme for nitric oxide synthesis) were associated with the effects of combination of glycine and the mTORC1/mTORC2 inhibitor. Conclusion: PI3K/Akt/mTOR signaling interacts with glycine-induced angiogenesis and anti-angiogenesis. These inhibitors act antagonistically or synergically on the dose-dependent biphasic effects of glycine. mTOR signaling is a critical target for an anti-cancer strategy, thus, the combination effects with glycine are expected on anti-angiogenesis.

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

2-P2-P49 神経障害性疼痛におけるミクログリア活性阻害の効果

○寺山 隆司, 内部 健太

広大院医 顎顔面解剖

末梢神経損傷後に脊髄後角でのミクログリアの活性化が起こり, このような変化が神経障害性疼痛の発症に関与していると考えられている。我々は近年, 脊髄後角2次ニューロンに対する侵害情報伝達の指標である c-Fos とリン酸化型 ERK の蛍光二重免疫染色を用いて, 末梢神経損傷が脊髄後角ニューロンに対する過剰な収斂投射を引き起こすことを報告した。本研究では神経損傷後の脊髄後角ミクログリアが収斂投射および神経障害性疼痛の発症と持続にどのように関与するかについて検討した。末梢神経損傷モデルとしてラットの脛骨神経の結紮・切断を用いた。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日で触および熱刺激に対して高感受性の状態となった。ミクログリアの活性抑制剤であるミノサイクリン(30 mg/kg/day)を神経損傷当日から8日間連続で腹腔内投与したところ, 脊髄後角でのミクログリアの細胞マーカーである OX-42 蛍光免疫陽性像の神経損傷による増強が抑制されるとともに, 神経損傷後14日での触覚および熱刺激に対する高感受性が抑制された。また同様のミノサイクリン投与により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過剰な収斂投射が抑制された。しかしながら神経損傷後7日目から8日間連続でミノサイクリンを投与した場合, ミクログリアの活性化, 収斂投射および触および熱刺激に対する高感受性の抑制効果は見られなかった。これらの結果は末梢神経損傷後のミクログリアの活性化が脊髄後角ニューロンに対する異常な侵害受容入力と神経障害性疼痛の発症において重要な役割を果たしていることを示している。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effects of microglial inhibition on neuropathic pain

○Terayama R, Uchibe K

Dept Maxillofac Anat & Neurosci, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

The activation of microglia in the spinal dorsal horn following peripheral nerve injury has been proposed to contribute to the development of a neuropathic pain state. This study was designed to examine the role of microglia in the development of a neuropathic pain after peripheral nerve injury. Tibial nerve injury initially induced hyposensitivity at 3 days post-injury followed by hypersensitivity to tactile and thermal stimuli at 14 days. The intraperitoneal administration of minocycline (30 mg/kg/day), an inhibitor of microglial activation, for 8 days starting on the day of surgery prevented increases in OX-42 immunofluorescence labeling in the spinal dorsal horn and the development of tactile and thermal hypersensitivity at 14 days post-injury. The same minocycline treatment (day 0-7) also reduced the nerve injury-induced convergence of nociceptive inputs to spinal dorsal horn neurons. However, the administration of minocycline for 8 days starting 7 days after surgery did not prevent nerve injury-induced microglial activation, convergent nociceptive inputs, or tactile and thermal hypersensitivity. These results suggest that microglial activation following peripheral nerve injury plays an important role in the anomalous convergence of nociceptive signals to spinal dorsal horn neurons and the development of neuropathic pain.

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

2-P2-P50 疼痛刺激は島皮質自発活動を増強する

○大橋 一徳, 小林秀太郎, 小林 真之

日大 歯

大脳皮質の神経細胞集団は特定のタスクや外部刺激がなくとも、機能コラムや脳領野といった特定の情報を処理する機能構造を再現した同期活動を恒常的に出現させており、この秩序構造を持った脳内活動は自発活動と呼ばれている。近年、客観的診断が困難な慢性痛患者の自発活動は健常者と異なることが機能的脳画像法により明らかとなり、痛みという主観的な感覚を脳の自発活動によって評価する方法が確立されつつある。一般的には、繰返される急性痛が慢性痛へ転化するといわれているが、慢性痛へ移行した時点において自発活動が変調しているのであれば、急性痛自体も自発活動を修飾している可能性がある。そこで、本研究では慢性痛に伴う自発活動の変化が確認されている島皮質に着目し、歯根膜電気刺激が島皮質自発活動にどのような影響を与えるのかについて、GCaMP6s マウスにカルシウムイメージング法を適用して検討した。その結果、自発活動中に出現する侵害情報表現、つまり、歯根膜刺激によって賦活される島皮質内の脳領域が、歯根膜刺激を与えない状態においても有意に賦活化されることが明らかとなった。また興奮性ニューロンの自発神経発火活動を二光子顕微鏡で観察したところ、ニューロンの活動性と同期性が歯根膜刺激後に増強されることが確認された。すなわち、マクロレベルで同定された歯根膜刺激による島皮質における応答領域に存在するニューロンが自発的に活性化されることを明らかにすることが出来た。これらの結果は、侵害刺激自体が惹起する疼痛に関わる神経回路の可塑的变化には、自発活動による回路の可塑的变化が含まれることを示唆しており、自発活動の増加が急性痛から慢性痛へと転化する機構に貢献している可能性を示している。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Acute nociplasticity-induced spontaneous pain representation in mice insular cortex

○O'Hashi K, Kobayashi S, Kobayashi M

Nihon Univ Sch Dent

Chronic pain is pain arising from the abnormal processing of pain signals without any clear evidence of tissue trauma. Since the pain is inherently subjective, clinicians rely on the patient's complaint to diagnose the disease. However, human neuroimaging technique has revealed that resting-state neural activity can be an objective measure for chronic pain. Concordant with emergence of chronic pain, ongoing correlated neural activity across brain regions changed, as well as increased activity in pain relating areas in comparison with healthy subjects. On the other hand, how acute pain evolves to chronic pain remains to be established, although relentless pain is generally prone to turn out chronic pain. Here, using calcium imaging technique, we examined spontaneous activity after periodontal ligament electrical stimulation in mice insular cortex whose activity was reported to alter with chronic pain. We found that pain evoked activity reemerged in subsequent spontaneous activity. This reactivation was, furthermore, confirmed as augmentation of neuronal activity and synchronization of neural population at single cell resolution. These results suggest that reactivation of the pain representation contributes to nociplasticity on neural circuits, as well as plasticity directly induced by external inputs, involving to a mechanism for facilitating transition to chronic pain.

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

2-P2-P51 トレッドミル走は、社会的敗北ストレスによって増大した上部頸髄におけるミクログリア活性を低下させる

○長谷川真奈¹, 山村 健介², 藤井 規孝¹

¹新潟大 医歯病 歯総診, ²新潟大 院医歯 口腔生理

最近、我々は身体的な運動が、社会心理ストレスに伴う咬筋・痛覚過敏を軽減することを報告した。近年の研究によって、運動療法が、中枢神経系のミクログリア活性を調節し、その結果、痛みを軽減することが示されてきた。本研究では、社会的敗北ストレス処置(SDS)・咬筋へのホルマリン侵害刺激が引き起こすC2部でのミクログリア活性が、運動療法によってどのような変化を示すか?について検討した。オスC57BL/6Jマウスに対し、SDS処置を10日(Day 1-10)実施した。Day 11, Social Interactionテストによって、ストレス感受性(+)と判定されたストレスマウスを用い、さらに10日間のSDS処置を実施した(Day 11-20)。またトレッドミル運動(6 m/分 x30分)をSDS処置後、毎日、実施した。Day 21, マウスの咬筋にホルマリンを注入し、2週間後、C2部でIba1(ミクログリアのマーカー)免疫組織化学を実施し、結果を非ストレス群と比較した。Iba1の定量は、陽性density, 陽性細胞数を指標に行った。C2後角の内側・浅層部で行った。Iba1の発現は、非ストレス群と比べ、SDS単独で有意に増大した。SDS群, 非SDS群ともにホルマリン刺激によるIba1陽性像の増大は見られなかった。さらにトレッドミル走は、SDSによって増大したIba1陽性像を低下させた。一方、非ストレス群では、運動によるIba1陽性像の変化を認めなかった。以上より、SDSはC2部におけるミクログリア活性を増大させること、トレッドミル走による運動療法は、SDS処置によって増大したミクログリア活性を低下させることが明らかになった。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Treadmill running exercises induce microglial alterations in the C2 region following social defeat stress in mice

○Hasegawa M¹, Yamamura K², Fujii N¹

¹Gen Dent Clin Educ Unit, Niigata Univ Med Dent Hosp, ²Div Oral Physiol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Recent our studies indicated that daily exercises reduced hyperalgesia in the masseter muscle (MM) under psychosocial stress conditions. Evidence revealed that physical exercises can reduce chronic pain through the regulation of glial activity in the brain. This study tested exercise effects on microglial activity in the upper cervical dorsal horn (C2) in the presence of social defeat stress (SDS) and/or masseter muscle injury. Male mice were exposed to SDS for 10 days. SDS susceptible mice were subjected to treadmill running (TR 6 m/min, 30 min) 30 min after SDS from Day 11-20. On Day 21 mice were sacrificed after MM formalin injection, followed by Iba1-immunohistochemistry, a marker for microglial activity, in the C2. SDS alone significantly increased microglial activity, indicated by increases in % Iba1-immunoreactivity (IR) area, mean gray density and # of Iba1 (+) cells in the C2. However, MM injection of formalin displayed less additional effects on Iba1-IR. Daily TR significantly decreased Iba1-IR in SDS but not in non-SDS group. These findings indicated that SDS has roles to alter microglial activity in the C2, which might contribute to enhanced MM nociception under psychosocial stress conditions. Further, daily physical exercises had inhibitory roles on enhanced microglial activity under SDS conditions.

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

2-P2-P52 セボフルランによる長時間の全身麻酔は 14 日齢のマウスの海馬神経細胞にアポトーシスを誘導する

○奥村 陽子¹, 永井亜希子², 池田やよい²

¹愛院大 歯 麻酔, ²愛院大 歯 解剖

【背景】乳幼児期の長時間や複数回の全身麻酔経験は成長後に学習障害を生じるという報告がげっ歯類やヒトで多くある。この学習障害は、麻酔薬が幼若な脳神経細胞にアポトーシスを誘導し、記憶に関わる神経回路の構築を長期的に妨げるために生じると考えられている。これまで、6~7日齢のマウスで全身麻酔後に脳神経のアポトーシスや、成長後の学習・記憶行動異常について多く報告されているが、この日齢はヒトの胎児期に相当する¹⁾。そこで我々は、ヒトの乳児期に相当する14日齢のマウスをセボフルランで長時間全身麻酔し、その直後の海馬の神経細胞のアポトーシスとミクログリアを検出した。【方法】14日齢の野生型 C57BL/6J マウスを、麻酔群 (n=4) と対照群 (n=4) に分けた。麻酔群は3%セボフルランで6時間全身麻酔し、対照群は空気下で6時間絶食させた。両群ともそれぞれの実験の直後に4%パラホルムアルデヒドにて経心灌流固定して6 μ mのパラフィン切片を作成し、cleaved caspase 3抗体とIba1抗体を用いて海馬の神経細胞のアポトーシスとミクログリアを免疫組織学的に検出した。【結果】Cleaved caspase 3抗体陽性細胞は、対照群では歯状回の神経新生部位に少数みとめられたのみであったが、麻酔群では歯状回の神経新生部位以外にもみとめられた。Iba1抗体陽性細胞は、対照群ではcleaved caspase 3抗体陽性細胞とは個別に存在していたが、麻酔群ではIba1とcleaved caspase 3が二重標識された細胞がみとめられた。【考察】今回、14日令の野生型マウスの海馬神経細胞は、セボフルランの長時間暴露によってアポトーシスを起こした細胞数が増加した。このため、ヒトの乳幼児期における長時間のセボフルラン麻酔は、海馬神経細胞に急性期変化を起こす可能性がみとめられた。このことが成長後の学習・記憶形成異常に影響する可能性があると考えられる。【文献】1) Workman AD, et al, J Neurosci, 33: 7368–7383, 2013.

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Long-time general anesthesia with sevoflurane induces apoptosis in hippocampal neurons of 14-day-old mice

○Okumura Y¹, Nagai A², Ikeda Y²

¹Div Anesthesiol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, ²Div Anat, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent

[Background] Long-time general anesthesia in infancy causes learning disabilities in adulthood. However, the mechanisms remain unclear. It has been reported that apoptosis of cerebral neurons was induced after anesthetics in 6–7 days old rodents. In this study, we studied neuronal apoptosis and microglia after 6–hours-anesthesia with sevoflurane in 14-day-old mouse hippocampus. [Methods] 14-day-old C57BL/6 J mice received 3% sevoflurane for 6 hours. As a negative control, mice without anesthesia were left in fasted condition for 6 hours. All the mice were perfused with 4% paraformaldehyde, and 6 μ m-paraffin sections of the brain were processed for double immunofluorescence using the apoptotic cell marker cleaved caspase 3 and the microglial marker Iba-1. [Results and Discussion] Both apoptotic cells and microglia in the hippocampus of anesthetized mice were more abundant compared with negative controls and were located in close proximity each other. The results suggest that long-time sevoflurane anesthesia cause acute phase changes in the hippocampus.

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

2-P2-P53 ラットを用いたトラネキサム酸誘発悪心の行動学的解析

○藤田 麻由, 乾 賢, 吉澤 知彦, 船橋 誠

北大 院歯 口腔生理

【目的】 トラネキサム酸(TXA)の悪心・嘔吐誘発機序における最後野および迷走神経求心路の役割を明らかにする。**【方法】** SD系雄性ラット(7-8週齢)を用い, 正常群および横隔膜下両側迷走神経切除群(VX群)と最後野切除群(APX群)を作成した。ラットは嘔吐しないので, TXAによる悪心誘発について調べた。TXA投与(1.5 g/kg, 1.5%体重 i. p.)により, 0.1%に対する条件付け味覚嫌悪(CTA)を獲得するか否かを解析し, TXAによる悪心誘発の程度を推定した。全てのラットは, 1日あたり20時間40分の絶水期間と飲水期間(20分間のテストと3時間の自由摂取)を設定し, このスケジュールで7日間トレーニングした後, 8日目に条件付けを行い, 翌日を回復日とし, その後6日間において20分間のサッカリン摂取テストを行い, 条件付け日のサッカリン摂取量と比較した。TXA溶液の高浸透圧による条件付けへの影響を検討するために, 正常群においてマンニトール(452 mM)を添加した生理食塩水を無条件刺激としてCTA測定を行った(MA群)データはDunnett's検定を用いて統計学的に解析し, 有意水準を5%とした。**【結果】** 対照群のサッカリン摂取量はCTA測定開始日から2日間有意な減少を認めたが, VX群では1日目のみであった(各群 n=6)。一方, APX群においては, いずれの測定日にもサッカリン摂取量の有意な減少を認めなかった(n=12)。MA群はCTA測定1日目からサッカリン摂取量が増加したことから, 高浸透圧刺激による悪心誘発ではないことが確認できた。これらの結果から, TXAによる悪心誘発の機序として迷走神経求心路および最後野の関与が明らかとなった。さらに, 最後野切除の影響の方がより大きいことから, 悪心を誘発する神経性情報と液性情報が最後野において統合されている可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Behavioral analysis of tranexamic acid-induced nausea in rats

○Fujita M, Inui T, Yoshizawa T, Funahashi M

Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

We investigated the mechanism of tranexamic acid (TXA)-induced nausea using behavioral analysis of conditioned taste aversion (CTA) in rats. CTA was measured by 1 bottle test after a training period of scheduled drinking, i. e., test drinking for 20 min, free drinking for 3 h, and 20h 40 min water deprivation a day. Rats were conditioned with saccharin, and TXA (1.5g/kg, i. p.). Subdiaphragmatic vagotomy (VX) or ablation of the area postrema (APX) were performed in some rats. Some rats were conditioned with saline containing 452 mM mannitol (i. p.) to examine the effect of hyperosmolarity of TXA solution. All rats in the control group acquired CTA on the first and second test day (n=6). The VX group acquired CTA on the first test day only (n=6). The APX group showed no significant decreases in the saccharin intake during the test period (n=12), indicating the acquisition of the CTA was abolished by APX. No rats were conditioned to avoid saccharin intake by injection of mannitol saline, indicating the emetogenic potential of TXA. The results indicated that both vagal afferent and the AP related to induction of TXA-induced nausea. Since APX showed a greater impact, it is possible that the AP integrates vagal afferent information.

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

2-P2-P54 ラット島皮質 GABA 作動性抑制性シナプスで生じる GABA_B受容体依存的な LTP 誘発メカニズムの解明

○山本 清文¹, 千喜良 緑^{1,2}, 小林 真之¹

¹日大 歯 薬理, ²日大 歯 麻醉

口腔顔面領域を支配する神経の損傷は、異所性疼痛や痛覚過敏を惹起する。その原因の一つとして、損傷後に中枢神経系に可塑的变化が生じ、口腔顔面領域の感覚情報が入力する大脳皮質島領野 (IC) の神経回路の組換えが生じることが挙げられる。皮質の抑制性ニューロンである fast-spiking 細胞 (FSN) は錐体細胞 (PYN) の興奮を強力に抑制することが知られている。したがって、この FSN-PRN シナプスに長期増強 (LTP) を生じさせることで、損傷時の IC への異常な興奮入力や PYN の過剰興奮が抑制され、IC の感覚異常を軽減できる可能性がある。そこで我々は、VGAT-Venus 遺伝子改変ラットから急性脳スライス標本を作製し、ホールセル・パッチクランプ法にて IC の複数のニューロンを同時に記録し、FSN-PYN シナプスで単一抑制性シナプス後電流 (uIPSC) を記録した。これまでの研究で、シナプス前ニューロンである FSN に θ burst 刺激を与えると uIPSC に LTP または長期抑制 (LTD) 応答が認められている。また、 θ 刺激前に算出され連続刺激によって誘発された uIPSC の振幅比 (PPR) と θ 刺激後の uIPSC 振幅の LTP/LTD の大きさの間には有意な正の相関が認められた。GABA_B受容体は Gi 共役型受容体であり、シナプス前終末に発現して伝達物質の放出を抑制することが知られている。そこで、GABA_B受容体遮断薬である CGP52432 を投与したところ、LTP の発生が抑えられた。一方、同受容体の作動薬 baclofen (10 μ M) を灌流投与すると、既報と同様、投与中に振幅が減少したが、逆に 1 μ M の baclofen では、投与中の振幅には変化を認めず、wash-out 中に振幅の長期増強と PPR の減少が認められた。これらの結果は、FSN-PYN シナプスで生じる LTP がシナプス前終末の放出機構の修飾によって生じること、ならびにその機序の一部に終末に発現する GABA_B受容体が関与している可能性を示唆する。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

GABA_B receptors induce long-term potentiation in the insular GABAergic synapses

○Yamamoto K¹, Chikira M^{1,2}, Kobayashi M¹

¹Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent, ²Dept Anesthesiol, Nihon Univ Sch Dent

The damage of the nerves innervating the orofacial region induces ectopic pain and hypersensitivity and facilitates neuronal excitabilities in the insular cortex (IC). We hypothesize GABAergic synaptic inhibition may contribute to suppressing the hyperexcitation in IC neuronal circuits. Fast-spiking neurons (FSN), a part of GABAergic neurons, strongly inhibit the excitation of pyramidal neurons (PYN). To test induction of long-term potentiation (LTP) in the FSN-PYN synapses, we performed whole-cell patch-clamp recording to examine IPSC plasticity. Theta burst stimulation induces LTP and long-term depression (LTD). The paired-pulse ratio (PPR) of IPSCs before theta burst stimulation showed positive correlations with the degree of LTP/LTD, suggesting a significant relationship between the release probability and LTP/LTD induction. Next, we focused on the presynaptic GABA_B receptors known as autoreceptors that suppress neurotransmitter release. We applied CGP52432, a GABA_B receptor blocker, and found that CGP52432 suppressed the induction of LTP but not LTD. On the other hand, the GABA_B receptor agonist baclofen (10 μ M) attenuated IPSC amplitude during application. Interestingly, 1 μ M baclofen induced LTP of IPSCs accompanying with a decrease in PPR in the washout period. These results suggest that the LTP is induced by presynaptic modulation and presynaptic GABA_B receptors may partly participate in the LTP induction.

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

2-P2-P55 肥満病態下における歯周病感染が引き起こす認知機能障害の機序の検討

○大植 香菜¹, 山脇 洋輔², 兼松 隆³

¹広大病院 歯科麻酔, ²第一薬大 薬 薬物治療, ³九大 院歯 口腔機能分子

【背景】 歯周病は、アルツハイマー型認知症の危険因子でもあり、歯周病による認知機能障害では、ミクログリアの炎症応答が関与すると考えられる。また、肥満病態では、脂肪から分泌させるアディポカインの産生調節が破綻し、全身の慢性炎症を引き起こすとともに、脳ではミクログリアの炎症応答が亢進する。本研究では、肥満マウスに歯周感染を惹起させ認知機能へ与える影響を解析するとともに、アディポカインの1つであるレプチンが歯周病原細菌である *P. gingivalis* 由来のリポ多糖 (PgLPS) が誘導するミクログリアの炎症応答へ与える影響を検討した。

【材料と方法】 12週齢のマウス (C57BL/6, 雄) に高脂肪食を18週間与えて作成した肥満モデルマウスに、*P. gingivalis* 生菌 10^8 CFU を週2回5週間口腔内に塗布し、Y迷路試験および新規物体認知試験を行った。その後海馬と血液サンプルを採取した。培養ミクログリア細胞 (MG-6) をレプチン前処理したのち、PgLPSで刺激後培養上清と細胞を回収した。炎症性サイトカインの遺伝子発現や放出は定量的PCR法とELISA法により評価した。

【結果および考察】 肥満マウスでは高レプチン血症および、海馬においてミクログリア活性化マーカーである Iba1 の発現上昇を認めた。歯周病細菌を経口塗布した肥満マウスにおいてのみ新規物体認知試験で認知機能が低下した。また、レプチン処理はMG-6においてIba1の発現を増加させ、PgLPS刺激による炎症性サイトカインの放出を増加させた。さらに、この培養上清を培養神経細胞 (Neuro-2A) へ作用させたところPgLPS単独刺激群よりも高い神経細胞障害性を示した。これらの結果は、肥満下での歯周病感染は、認知機能を低下させ、これにはレプチンによるミクログリア活性化に由来する炎症性サイトカインなどの液性因子が引き起こす神経細胞障害が関与する可能性を示している。

【共同研究者】 広大・院医系科学・歯周 水野智仁, 應原一久

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Investigation of the mechanism of cognitive dysfunction induced by periodontal infection under obesity

○Oue K¹, Yamawaki Y², Kanematsu T³

¹Dent Anesthesiol, Hiroshima Univ Hosp, ²Lab Adv Pharmacol, Daiichi Univ Pharm, ³Sect Aging Sci Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Periodontal disease is also a risk factor for Alzheimer's disease, and microglial inflammatory responses have thought to be involved in periodontal-induced cognitive dysfunction. In addition, the regulation of adipokine production, which is secreted from fat, is disrupted, caused chronic inflammation throughout the body and increased microglial inflammatory response in the brain in obesity pathology. In this study, we analyzed the effects of periodontal infection on cognitive function in obese mice, and that of leptin, which is one of adipokine, on the inflammatory response of microglia induced by *P. gingivalis*-derived lipopolysaccharide (PgLPS). Hyperleptinemia and microglial high-activity in the hippocampus were observed in obese mice, and the cognitive function was impaired only in obese mice orally treated with periodontal bacteria. Leptin treatment increased the expression of Iba1 in MG-6 (microglia) and the release of pro-inflammatory cytokines upon PgLPS stimulation. Additionally the culture media induced Neuro-2A (neuron) cell death. These results indicated that periodontal infection under obesity induced cognitive dysfunction, which may be related to neuronal damage caused by humoral factors such as inflammatory cytokines derived from leptin-induced microglial activation.

Collaborators: Kazuhisa Ouhara and Noriyoshi Mizuno (Department of Periodontal Medicine, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University)

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

2-P2-P56 歯周病菌由来 LPS 処理による神経系細胞のミトコンドリアへの影響

○富田 和男, 五十嵐健人, 佐藤 友昭

鹿大 院医歯 応用薬理

近年, 歯周病菌由来 LPS が胎児の発達遅延や早産, 流産, 糖尿病の悪化, 骨粗鬆症, アルツハイマー病発症など口腔内だけでなく全身疾患に関与することが明らかとなってきた。しかしながらその分子メカニズムは十分に明らかとはなっていない。本研究では, この LPS の影響について, NGF 処理で神経様細胞に分化する PC-12 細胞を用いて検討した。

PC-12 細胞を NGF 処理すると, 分化に伴って細胞膜上の Cl⁻ トランスポーターである KCC2 の発現が次第に上昇するが, *P. gingivalis* 由来の LPS 処理をすると, この KCC2 の発現上昇が阻害された。神経細胞の成熟は, この KCC2 の発現上昇による GABA の興奮性から抑制性への機能変化である GABA スイッチが重要であるが, LPS 処理により, GABA 機能は興奮性が保たれていた。LPS は炎症性サイトカインを惹起するストレスラーであり, 炎症部位においては活性酸素種 (ROS) の産生が亢進していることが報告されている。そこで, 細胞内のヒドロキシラジカルを HPF, 過酸化水素量を HYDROP, ミトコンドリア由来活性酸素を MitoSOX にて各 ROS を検出したところ, LPS 処理によりこれら全ての ROS の発現が増大していた。ROS の最大の発生源はミトコンドリアであることから, LPS 処理によるミトコンドリア機能変化について検討したところ, JC-1 染色によりミトコンドリア膜電位が減少している事が明らかとなり, ミトコンドリア構成タンパク質のひとつ, プロヒビチン 2 (PHB2) の発現も減少していた。さらに, PHB2 を siRNA にてノックダウンすると, KCC2 の発現が抑制されることもわかった。これらの結果から, LPS 処理によりミトコンドリアが障害を受け, PHB2 発現が減少することにより KCC2 発現が減少し神経成熟が阻害されることが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effect on mitochondria by periodontal disease-derived LPS treatment in PC-12 cells

○Tomita K, Igarashi K, Sato T

Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

It has become clear that LPS derived from periodontal disease bacteria is involved not only in the oral cavity but also in systemic diseases such as diabetes and Alzheimer's disease. However, its molecular mechanism has not been fully clarified. In this study, we investigated the effect of LPS using PC-12 cells. NGF treatment gradually increased the expression of KCC2 in PC-12 cells but LPS treatment derived from *P. gingivalis* inhibited the increase of the KCC2 expression. The GABA switch is a functional change from excitatory to inhibitory GABA due to the increased expression of KCC2. LPS treatment kept the GABA function excitatory. We detected intracellular hydroxyl radical, hydrogen peroxide, and mitochondrial superoxide by HPF, HYDROP, and MitoSOX. As a result, the expression of all these ROS was increased by LPS treatment. We investigated changes in mitochondrial function by LPS treatment because mitochondria are the main source of ROS. LPS treatment reduced the mitochondrial membrane potential and one of the mitochondrial constituent proteins, prohibitin 2 (PHB2) expression. Furthermore, the knockdown of PHB2 by siRNA suppressed the expression of KCC2. These results suggest that LPS treatment damages mitochondria and reduces PHB2 expression, which reduces KCC2 expression and inhibits neural maturation.

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

2-P2-P57 低閾値開口反射の適応変化は咀嚼における最初のサイクルの咬合接触によって獲得された学習記憶に依存する

○松永 知子, 森田 匠, 横田たつ子, 平場 勝成

愛院大 歯 生理

【目的】咀嚼運動中の低閾値機械受容器由来の開口反射（低閾値開口反射）は、閉口相と咬合相で抑制されることが知られている。我々は、低閾値開口反射の変調が咬合接触直前の顎位で最も強く抑制され、かつ、作業側と平衡側の間で有意差がみられることを報告してきた。本研究は、この変調が一連の咀嚼運動中のどのサイクルから起こるのか検討を行った。

【方法】麻酔下のウサギの皮質咀嚼野電気刺激で誘発される咀嚼様運動時の顎運動と顎二腹筋の筋電図を同時に記録した。咀嚼様運動中の最大開口位(max-OP)と、閉口相後半で咬合接触直前(end-CL:開口量約2.6 mm)の顎位において、下歯槽神経の2発刺激(interval:2 ms, 刺激強度:1.04T)による低閾値開口反射をサイクル毎に誘発し、咀嚼開始から6サイクル目までに誘発された開口反射記録を解析した。

【結果】安静時の開口反射振幅を100%とした時、end-CLにおける1サイクル目の振幅は39.4%で、2サイクル目では17.1%に減少し、3サイクル目以降も14.8%、9.7%、16.0%、12.7%と持続的に減少していた。一元配置分散分析(ANOVA)の結果、2~6サイクル目の開口反射の振幅は、1サイクル目の振幅と比較して有意に小さかった。max-OPでの開口反射も咀嚼運動中に減少したが、その振幅は1サイクル目から順に、安静時振幅の58.3%、47.8%、78.1%、47.9%、63.0%、65.1%であり、これらにサイクル間での有意差は認められなかった。

【考察】end-CLの開口量は、ウサギのoverbite量とほぼ一致し、咬合接触の直前であるために歯根膜からの感覚入力が生じていない。しかし、低閾値開口反射は1サイクル目に比して2サイクル目以降で大きく抑制された。これは、咀嚼運動の最初のひと噛みで顎位を学習し、2サイクル目以降はその学習に基づいた予測制御により低閾値開口反射の変調が行われている可能性を示唆している。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Adaptive change in the low-threshold jaw-opening reflex depends on the learning memory acquired by the first biting in the initial cycle of mastication

○Matsunaga T, Morita T, Yokota T, Hiraba K

Div Physiol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent

[Objectives] The purpose of this study was to investigate the modulation of the low-threshold jaw-opening reflex (JOR) along the cycle sequence during mastication.

[Methods] EMG activity of the digastric muscle and mandibular movement were recorded during fictive mastication induced by electrical stimulation of the cortical masticatory area of anesthetized rabbits. The JORs were evoked by electrical stimulation of the inferior alveolar nerve at two jaw positions: the maximum jaw opened position (max-OP), and ~2.6 mm below occlusal contact in the jaw closing phase (end-CL).

[Results] In the first cycle of the fictive mastication, the amplitudes of the JOR of max-OP and end-CL significantly decreased compared to the control level at rest jaw position, 58.3% and 39.4%, respectively. However, the JOR of max-OP showed no significant changes during following 5-cycles tested. In contrast, the JOR of end-CL showed further significant decrease at transition from the first and second cycle, 39.4% to 17.1%. This suppression lasted until 6th cycle.

[Conclusion] Tooth contact does not occur at end-CL. Therefore, this fact strongly suggests that suppression of the JOR of end-CL may be basically under feed forward control but reinforced by the first bite occurring in the initial cycle of masticatory sequence.

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

2-P2-P58 歯髄幹細胞由来無血清培養上清は坐骨神経結紮モデルマウスの神経障害性疼痛を改善する

○加納 史也¹, リュー ヤオ^{1,2}, 橋本 登¹, 松香 芳三³, 田中 栄二², 山本 朗仁¹

¹徳大院医歯薬 組織再生制御, ²徳大院医歯薬 顎顔面矯正, ³徳大院医歯薬 顎機能再建

背景:「疼痛」は身体への侵襲や損傷を知らせる重要な感覚である。しかし損傷が修復しても遷延する「神経障害性疼痛」がある。そのメカニズムは神経損傷に伴う神経節内や脊髄内のマクロファージ/ミクログリアの炎症変性であることが知られている。マクロファージ/ミクログリアはその機能により M1 と M2 に分類される。神経損傷時に発現する炎症性 M1 を抗炎症性 M2 に誘導することができれば、神経障害性疼痛の新たな治療戦略になることが考えられる。本研究では、坐骨神経結紮によって誘発された神経障害性疼痛モデルマウスに SHED-CM を投与し、その治療有効性を検証した。方法: PSL マウスに SHED-CM を投与し、M2 マクロファージ、リコンビナント MCP-1, sSiglec-9 タンパク質、M2-CM, 線維芽細胞-CM を除去した。In vitro で TNF- α により活性化したヒトシュワン細胞 (SC) を M2-CM で処理した。傷害を受けた坐骨神経 (SCN), 後根神経節, 脊髄 (SP) における炎症性メディエーター, 神経保護因子, 侵害受容体, M1, M2, 活性化グリア細胞のマーカーの発現を RT-PCR と免疫組織化学で評価した。PSL マウスの機械的アロディニアは von Frey テストで解析した。結果: 行動試験では、SHED-CM 投与によりアロディニアなどの過敏な反応は抑制された。結紮した坐骨神経と同側 L3/L4 後根神経節での M2 マクロファージ/ミクログリアの集積を認めた。脊髄組織ではアストロサイトやミクログリアの活性を著しく抑制していた。また、体内の M2 マクロファージを特異的に除去する m-clodronate を投与すると SHED-CM の治療効果は減弱した。結論: SHED-CM は、鎮痛作用のある抗炎症性 M2 マクロファージを誘導することで、NP を改善することが示唆されました。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Conditioned medium from the dental pulp stem cells ameliorates neuropathic pain in mouse partial sciatic nerve ligation models

○Kano F¹, Liu Y^{1,2}, Hashimoto N¹, Matsuka Y³, Tanaka E², Yamamoto A¹

¹Dept Anat Histol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, ²Dept Orthod, Dentofac Orthop, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, ³Dept Stomatognath Func Occl Reconst, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

Background: We have previously reported that conditioned medium (CM) from dental pulp stem cells of deciduous teeth (SHED-CM) or its components, MCP-1 and sSiglec-9, directly induces anti-inflammatory M2 macrophages; however, the antinociceptive activity of induced M2 is unknown. In this study, we investigated the antinociceptive effect of SHED-CM, MCP-1, and sSiglec-9 or secretome from M2-induced by SHED-CM (M2-CM) against neuropathic pain (NP) using a partial sciatic nerve ligation (PSL) mouse model and analyzed the mechanical bases of their antinociceptive effects. Methods: PSL mice were treated using SHED-CM, MCP-1, sSiglec-9 protein or M2-CM. The expression of proinflammatory mediators, neuroprotective factors, the nociceptive receptor, and markers for M1, M2, and activated glial cells in injured sciatic nerve (SCN), dorsal root ganglion, or spinal cord (SP) were evaluated by RT-PCR and immunohistochemistry. Mechanical allodynia of PSL mice was analyzed via the von Frey test. Results: In the behavioral test, intravenous administration of SHED-CM significantly improved the PSL-induced hypersensitivity and motor deficits. SHED-CM treatment suppressed microglial activation in the SP. Intravenous administration of both MCP-1/sSiglec-9 and M2-CM ameliorated the PSL-induced hypersensitivity. Conclusion: Our data suggest that SHED-CM ameliorates NP through the induction of the analgesic anti-inflammatory M2 macrophages.

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

2-P2-P59 口内炎モデルラットの三叉神経節における hepcidin の発現とその役割

○人見 涼露^{1,2}, 篠田 雅路¹, 小野堅太郎²

¹日大 歯 生理, ²九歯大 生理

口内炎や歯周炎などの口腔内炎症は、末梢神経系の様々な遺伝子やタンパク質の発現を変化させ、口腔内に疼痛を発症させる。しかし、その詳細については不明な点が多い。本研究では、下顎口腔粘膜への酢酸塗布により自発痛や機械アロディニアを生じる口内炎モデルラットを用いて、三叉神経節における網羅的遺伝子発現解析を行った。口内炎発症後、三叉神経節において32遺伝子の発現増加を認めた。とくに *hamp* (*hepcidin antimicrobial peptide*) 遺伝子は口内炎部位を支配する三叉神経節第三枝領域で発現が増加し、抗菌薬を用いた口内炎程度の減弱によりその発現増加が抑制された。また、*hamp* およびそのタンパク質である hepcidin は口内炎部位においても増加していたが、肝臓や血漿、唾液では変化しなかったことから、全身ではなく局所的に hepcidin が産生されることが示唆された。さらに、電気生理学的手法を用いて、口腔粘膜支配三叉神経脊髄路核中間亜核/尾側亜核ニューロンに対する hepcidin の影響を検討したところ、hepcidin リコンビナントの口腔粘膜下投与1時間後において、口腔粘膜への侵害機械刺激に対する口腔粘膜支配三叉神経脊髄路核中間亜核/尾側亜核ニューロンの活動性が増強した。一方、同ニューロンの自発発火頻度に明らかな変化は認められなかった。以上の結果から、口内炎の発症により口内炎部位とその支配神経節で hepcidin が産生されること、hepcidin は口腔粘膜での侵害機械応答に関与する可能性が示された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Expression and functional analysis of hepcidin in the trigeminal ganglion of the oral ulcerative mucositis rat model

○Hitomi S^{1,2}, Shinoda M¹, Ono K²

¹Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent, ²Div Physiol, Kyushu Dent Univ

Orofacial inflammation and trigeminal nerve injury cause intraoral pain, due to neuroplastic changes in expression of several gene and proteins. However, the details have been still unknown. In the present study, we investigated gene modulation in the trigeminal ganglion (TG) using rat model of acetic acid-induced oral ulcerative mucositis, a representative model of intraoral pain. DNA microarray analysis of trigeminal ganglion tissue collected on day 2 identified 32 significantly regulated genes. The upregulation of the top 1 gene, *hamp* (*hepcidin antimicrobial peptide*) mRNA level was increased in third branch of TG in the model. Up-regulation and increase of *hamp*/hepcidin, respectively, were also induced in the ulcer region but not in the liver with no increase of hepcidin in plasma and saliva, suggesting that hepcidin is produced locally and not systemically in the model. Systemic antibiotic pre-treatment did not increase the mRNA levels in TG and ulcer region. Hecpudin injection into the oral mucosa caused enhancements of neuronal activities in response to noxious mechanical stimulations in trigeminal spinal subnucleus interpolaris/caudalis neurons which innervated the injection site. From these results, *hamp*/hepcidin are produced at locally and involves in enhancement of pain threshold in oral ulcerative mucositis.

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

2-P2-P60 歯の移動が引き起こす開口反射興奮への TRP チャンネル拮抗薬の歯肉塗布の効果

○湯川 未郷¹, 須田 直人¹, 安達 一典²

¹明海大 歯 矯正, ²明海大 歯 薬理

【目的】歯肉への電気刺激は、開口反射を誘発する。その開口反射誘発閾値 (TH) は、刺激部位の歯に矯正力を負荷することで有意に低下する。この矯正力による開口反射興奮は、抗炎症薬や transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) 拮抗薬の腹腔内投与、局所へのレーザー照射で抑制されることから、その発現には局所の TRPV1 などの活性を含んだ炎症反応の関与が明らかになっている。しかしながら、TRPV1 拮抗薬の全身投与は深部温度上昇などの不具合を生じることから、矯正力負荷による疼痛を制御する目的で使用するためには、安全な応用方法を確立する必要がある。そこで本研究では、TRP チャンネル拮抗薬の局所投与効果を検討した。【試料および方法】雄性 Wistar ラットの顎側門歯と右側第一臼歯 (M1) 間に、矯正力を負荷した。1 日後にイソフルラン全身麻酔下で、開口反射誘発閾値 (TH1) を測定、継続して 60 分間閾値 (TH2-4) を計測した。薬物は、矯正力負荷直後 (D0 群)、または TH1 測定後 (D1 群) に右側 M1 歯頸部歯肉に塗布した。TH 測定中には、直腸温・歯肉温も測定した。(n=5) 【結果および考察】D0 群への TRPV1 拮抗薬 (AMG9810: 2-4%) 塗布は、右側 TH1 を対照群より有意に上昇した。D1 群への TRPV1 拮抗薬 (AMG9810, A-889425), TRPA1 拮抗薬 (A-967079, HC030031) の塗布 (2-8%) は、TH1 と比較し、TH3 と TH4 を有意に上昇した。また、4% AMG9810 と 4% A-967079 の同時塗布は、より強い鎮痛効果を現した。一方、いずれの拮抗薬も直腸温・歯肉温に影響を与えなかった。【結論】歯の移動に伴う疼痛は、複数の TRP チャンネル拮抗薬を同時に歯肉塗布することで、副作用を回避して有効に制御できることが示された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effects of topical application of TRP channel antagonists to gingival surface on experimental tooth movement-induced jaw opening reflex excitation

○Yugawa M¹, Suda N¹, Adachi K²

¹Div Orthod Dept Human Dev Foster, Meikai Univ Sch Dent, ²Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent

The electrical stimulation to gingiva induced the jaw-opening reflex (JOR). The threshold for inducing JOR (TH) is significantly reduced by application of orthodontic force to the tooth of the stimulating region. Our previous investigation has indicated that the inflammatory reaction including the activation of local TRPV1 plays a crucial role in inducing such JOR excitation and has emphasized the beneficial effects of TRPV1 antagonism on orthodontic pain. However, the existence of adverse side effect (e. g., hyperthermia) of general administration of TRPV1 antagonists provides the necessity to investigate improved strategies. In this study, TRP antagonists were topically applied to gingiva, and the orthodontic force-induced JOR excitation was investigated. The application of TRPV1 antagonist (AMG9810: 2-4%) immediately after orthodontic force application significantly increased JOR TH next day. The application of TRPV1 (AMG9810, A-889425) or TRPA1 (A-967079, HC030031) antagonist (2-8%) at one day after orthodontic force application (D1) significantly increased TH. Moreover, the mixture (4% each) of AMG9810 and A-967079 showed an enhanced analgesic effect in D1. Nevertheless, topical application of antagonists did not alter gingival and rectal temperatures. Topical application of TRP antagonists cocktail may be useful for orthodontic pain without adverse side effects.

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

2-P2-P61 ラット三叉神経節の三次元的な体部位局在と異所性疼痛の関連性についての研究

○倉本恵梨子¹, 福島 慎¹, 岩井 治樹¹, 山中 淳之¹, 杉村 光隆², 後藤 哲哉¹

¹鹿大院医歯 機能形態, ²鹿大院医歯 歯科麻酔全身管理

【目的】 歯科の臨床で、歯に問題がないにもかかわらず歯痛を訴える症例がある。痛みの原因部位と異なる部位が痛むように感じることを異所性疼痛といい、健常歯の切削などの問題を生じる。この異所性疼痛の原因の一つに三叉神経節での神経細胞のクロストークが提唱されている。損傷を受けた三叉神経節細胞が炎症性メディエーターを放出し、周囲の衛星細胞や損傷を受けていない神経細胞を活性化することで、異所性疼痛につながる可能性がある。この仮説に基づくと、臨床的に異所性疼痛を生じやすい部位を支配する神経細胞は、三叉神経節内で近接して存在すると予想される。本研究では、三叉神経節の体部位局在を三次元的に解析し、異所性疼痛のメカニズムの理解に必要な基礎データを提供することを目的とした。【方法】 ラット三叉神経の支配領域である、口蓋、咬筋、舌、歯髄などの領域に逆行性トレーサーの fast blue を注入した。一週間後に三叉神経節を取り出し、3DISCO (three-dimensional imaging of solvent-cleared organs) 法を用いて透明化した。共焦点レーザー顕微鏡で撮像し、fast blue 陽性細胞の局在を3次元的に再構成した。【結果】 第1枝、第2枝、第3枝領域に軸索投射する三叉神経節細胞は、三叉神経節内でそれぞれ異なる領域に分布していた。しかし境界領域では重複が見られ、特に第2枝と第3枝領域を支配する神経細胞の分布はかなり重複した。上顎と下顎の臼歯、咬筋と下顎臼歯、舌と下顎臼歯の組み合わせで大きな重複がみられた。これらの領域に、2種類の逆行性トレーサーをそれぞれ注入することで、異なる領域を支配する神経細胞が一部、近接して存在することが確認された。【結論】 臨床において異所性疼痛を生じることが知られている領域を支配する神経細胞体の近接が観察されたことから、三叉神経節での、衛星細胞を介した神経細胞のクロストークが異所性疼痛の原因の一つとなる可能性が示された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

A study of the relationship between three-dimensional somatotopy of the rat trigeminal ganglion and ectopic pain

○Kuramoto E¹, Fukushima M¹, Iwai H¹, Yamanaka A¹, Sugimura M², Goto T¹

¹Dept Anat Oral Sci, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Dept Dent Anesthesiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

In clinical dentistry, some patients complain of toothache even though their teeth are intact. This is called ectopic pain. Neuronal crosstalk in the trigeminal ganglion (TG) has been proposed as one of the causes of ectopic pain. Damaged TG cells may release inflammatory mediators that activate surrounding satellite cells and undamaged neurons, leading to ectopic pain. Based on this hypothesis, the neurons involved in ectopic pain would be expected to be close to each other. Thus, we aimed to provide three-dimensional somatotopy of the TG, a necessary data for understanding the mechanism of ectopic pain. We injected fast blue, a retrograde tracer, into the rat orofacial regions. The localization of retrogradely labeled TG cells were reconstructed. TG cells projecting to the first, second, and third branch regions were distributed in different areas within the TG with overlap in the border regions. A large overlap was observed in the combination of mandibular molars and masseter or tongue. By injecting two types of retrograde tracers into each of these regions, we confirmed that some neurons innervating different regions located in close to each other. This result suggests that neuronal crosstalk in the TG may be one of the causes of ectopic pain.

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

2-P2-P62 メタロチオネイン-1, 2 欠損マウスの味覚嗜好性の変化

○保浦 七愛^{1,2}, 乾 賢¹, 蘇 韶懿¹, 吉澤 知彦¹, 十川 紀夫³, 船橋 誠¹

¹北大 院歯 口腔生理, ²北大 院歯 矯正, ³松歯大 総歯研

目的：メタロチオネイン (MT)-1, 2 は脳を含む全身の細胞に発現を認める金属結合タンパク質であり、亜鉛をはじめ多くの微量重金属イオンの体内動態の調節に関与しているとされる。しかし、MT の生理機能には不明な点が多く残されている。そこで、MT-1, 2 欠損マウス (KO) を用いて 1) 塩味と甘味に対する嗜好性、2) 条件付け味覚嫌悪 (CTA) の獲得能、3) 血漿亜鉛濃度を調べ、野生型と比較し、MT の生理機能を解明することを目的とした。方法：129/Sv 系マウスを用いて、2 瓶選択法 (48 時間呈示) により、塩味 (塩化ナトリウム溶液)、甘味 (サッカリン溶液、スクロース溶液、アラニン溶液) と蒸留水を組み合わせマウスに呈示し、各瓶からの摂取量を測定した。総摂取量に占める味溶液の割合を味覚嗜好率として算出した。次に、1 瓶法を用い、CTA の獲得を評価した。0.2% サッカリン溶液 (15 分間呈示) と 0.3M 塩化リチウム (1% 体重, i. p.) の対呈示により条件付けを行い、サッカリン溶液の摂取量を測定した。また、心臓穿刺により採血した血液中の亜鉛濃度を定量した。結果：KO は WT と比べて塩味嗜好率が低い傾向を示した。甘味については、KO, WT とともに高いスクロース嗜好率を示したが、KO のサッカリン嗜好率は WT より高い値を示した。アラニンは、嗜好率に有意差を認めなかった。CTA テストでは、両系統とも条件付け日と比べて全てのテスト日 (3 日間) のサッカリン摂取量が有意に減少したことから、CTA の獲得ありと判定した。KO と WT の血漿亜鉛濃度には有意差を認めなかった。考察：以上から、KO 人口甘味料に対して WT より強い嗜好性を示したことから、KO の甘味受容機構が WT と異なる可能性が示唆された。サッカリン嗜好性の違いによる CTA 獲得能への影響は認められなかった。また、MT の有無で血漿亜鉛濃度の違いを認めなかったことから、KO と WT の味覚嗜好性の違いは細胞内亜鉛動態の変化によることが推測され、今後の研究課題となった。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Changes in taste preference in mice with metallothionein-1 and 2 deficiencies

○Yasuura N^{1,2}, Inui T¹, So S¹, Yoshizawa T¹, Sogawa N³, Funahashi M¹

¹Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ²Dept Orthodont, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ³Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

We investigated 1) taste preference for saltiness and sweetness, 2) acquisition ability of conditional taste aversion (CTA), and 3) plasma zinc concentration in the MT-1 and 2 deficient mice (KO). Total sixty 129/Sv mouse (29 KO and 31 WT) were used. A solution containing sodium chloride, saccharin, sucrose or alanine was paired with distilled water for 2 bottle preference test (48 hours). The acquisition of CTA was evaluated using a one-bottle method. 0.2% saccharin solution and 0.3 M lithium chloride (1% body weight, i. p.) were used for the conditioning. The plasma zinc concentration was measured by using Metalloassay. KO showed a lower salt preference rate rather than WT. Both KO and WT showed high sucrose preference rate, but saccharine preference rate of KO showed higher values than WT. No significant difference was found in the alanine preference rate. Both KO and WT acquired CTA on all test days (3 days). There was no significant difference in plasma zinc concentrations of KO and WT. These results suggested that the receptive mechanism of artificial sweetener may differ between WT because KO. The difference in taste preference between KO and WT may be due to the change in intracellular zinc dynamics.

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

2-P2-P63 増粘剤への味物質の添加は味覚神経応答を変化させるか？

○中村 文彦¹, 前田知馨代², 安尾 敏明¹, 諏訪部 武¹, 玄 景華², 裕 哲崇¹
¹朝日大 歯 口腔生理, ²朝日大 歯 障害者

嚥下機能の補助として、食品に増粘剤を添加することは臨床上よく行われている。我々は、4基本味物質を代表的な chemical grade の増粘剤であるキサントガム、グアガム、ペクチン（すべて0.3%）に溶かしたときの嗜好性の変化をラットを用いた行動学的研究により解析し、その嗜好性には、味質と添加した増粘剤の種類により様々なバリエーションが認められることを昨年の本大会にて報告した。本研究では、これらの増粘剤への基本味物質（0.1 M NaCl, 0.1 M ショ糖, 3 mM HCl, 1 mM 塩酸キニーネ）の混合が、味覚神経応答にも変化をもたらすかどうかを、ラットの鼓索神経応答を電気生理学的に記録することにより検討した。また、chemical grade の増粘剤とは別に、3種類の市販増粘剤を用いた場合でも同様の検討を行い、その結果を比較した。市販増粘剤の濃度は「摂食・嚥下リハビリテーション学会分類 2013（とろみ）早見表」に基づき「濃いとろみ」相当に統一した。

その結果、chemical grade の増粘剤と味物質の混合物に対する鼓索神経応答は、味質により多少の差異があるものの、それぞれ単独で舌刺激した時の応答の算術和よりも小さい傾向がみられた。市販増粘剤に基本味物質を混合した場合には、その増粘剤や混合する味覚刺激の種類ごとに、味覚神経応答には様々なバリエーションが見られた。以上の結果から、増粘剤と味物質の混合は、味覚受容に対して複雑な影響を与える可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Do the mixing of the thickeners and taste substances change taste nerve responses?

○Nakamura F¹, Maeda C², Yasuo T¹, Suwabe T¹, Gen K², Sako N¹

¹Dept Oral Physiol Div Oral Funct Sci Rehabil, Asahi Univ Sch Dent, ²Dept Dent for the Disabled, Asahi Univ Sch Dent

In the present study, we recorded the chorda tympani nerve responses of rats to 4 basic taste stimuli before and after mixing with 6 thickeners to investigate whether mixing of thickeners and taste substances affect the taste receptor mechanism. As thickeners, xanthan gum, guar gum and pectin were used for the chemical grade thickeners. Three types of the commercial grade thickeners were also used. In the results, the chorda tympani responses to the mixture of thickeners and taste substances were various by the kind of thickeners and taste stimuli. The mixing taste substances to thickeners may affect the taste receptor mechanism.

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

2-P2-P64 抗不整脈薬フレカイニドの酸味増強作用とその分子機構の解析

○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

薬物性味覚障害は、患者の QOL 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。本研究では副作用に味覚障害の発症が報告されている抗不整脈薬であるフレカイニドに着目し、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。まず、フレカイニドをマウス腹腔内に 30 日間連続投与、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、連続および単回の両方で、フレカイニド投与マウスにおいて酸味溶液に対する有意なリック数の減少（忌避の増強）が見られた。一方、他の味溶液に対する行動応答にはコントロール群との間に変化が認められなかった。同様に、味溶液と水を 2 分間提示した 2 瓶選択嗜好試験でも酸味溶液の飲水量のみが有意に減少した。次に、フレカイニドを単回投与したマウスを用いて、各味溶液に対する鼓索神経応答を解析した。その結果、酸味溶液においてのみ、有意な応答の増強が見られた。最後に、この酸味増強に関与する分子を特定するために、酸味受容体の一つである Otopetrin 1 (Otop1) チャンネルに着目し、酸味応答に対するフレカイニドの影響を検討した。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、酸味物質により惹起される Otop1 発現細胞の膜電位上昇は、フレカイニドを作用させることで濃度依存的に増強されることが分かった。以上の結果から、フレカイニドは酸味感受性を特異的に増強し、その作用機構には Otop1 が関与する可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

The enhancement mechanism of sour taste perception by flecainide in mice

○Kawabata Y¹, Takai S¹, Yoshida R², Sanematsu K^{1,3}, Shigemura N^{1,3}

¹Sect Oral Neurosci, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²Dept Oral Physiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ³R&D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ

Drug-induced taste disturbance causes a decline in the quality of life, however, little is known about the molecular mechanisms underlying those disturbances. In this study, we focused on flecainide, which is an antiarrhythmic drug known to cause taste dysfunction as an adverse reaction. First, we investigated the effects of flecainide on behavioral taste responses. The mice treated with long-term (30 days) or single intraperitoneal injection of flecainide exhibited a significantly lower licking rate to HCl (a sour tastant) than those in control mice, but not to the other basic taste solutions. The chorda tympani nerve response to HCl was also significantly greater in flecainide-treated mice than vehicle-treated mice. In addition, the flecainide application enhanced the HCl-induced membrane potential of the HEK293T cells transfected with mouse otopetrin-1 (Otop1), a proton-selective ion channel which was recently identified as a mouse sour taste receptor. These results suggest that flecainide specifically enhances the response to sour taste, and Otop1 might be involved in this sour taste modulation.

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

2-P2-P65 根管洗浄溶液のラット 4 基本味応答への影響

○山崎 真帆¹, 田中 雅士¹, 裕 哲崇², 河野 哲¹

¹朝日大 歯 歯科保存 歯内療法, ²朝日大 歯 口腔生理

【目的】根管治療では、ファイルなどの根管小器具を用いた機械的清掃とともに、根管洗浄溶液を用いた化学的清掃を行うことが多い。根管洗浄に用いる薬剤は刺激性を有するため、口腔粘膜、顔面皮膚、あるいは根尖歯周組織の損傷が生じないように、十分な注意を払って使用するものであるが、不適切なラバーダム防湿などにより、これらの薬剤が根管外に漏洩する可能性は少なからず否めない。そこで、本研究では根管洗浄剤が、根管外に漏洩し、味覚器に付着した場合、味覚神経応答にどのような影響を与えるかを電気生理学的な手法をもとに検討した。

【方法】実験には雄性 Wistar/ST ラット (8~9 週齢, n=7) を用い、2 種の根管洗浄剤を舌に 1 分間 3 ml 作用させた前後の基本味溶液 (0.1 M 塩化ナトリウム, 0.5 M ショ糖, 10 mM 塩酸, 0.02 M 塩酸キニーネ) に対する鼓索神経応答の変化を、電気生理学的手法により記録し、比較検討した。根管洗浄剤として 3% 次亜塩素酸ナトリウム溶液および 3% EDTA 溶液を用いた。

【結果と考察】3% EDTA を舌に作用させた前後では、実験を行ったいずれの基本味溶液に対する鼓索神経応答も変化しなかったが、3% 次亜塩素酸ナトリウム水溶液を作用させた後には、全ての鼓索神経応答が、処理前より有意に抑制され、その抑制は 1 時間たっても回復しなかった。これらの事実は、EDTA に比較して次亜塩素酸ナトリウム水溶液は味質非特異的に強力な味覚抑制作用を示し、これらの薬剤を使用する際には、十分な注意が必要である。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effects of the application of root canal irrigation solutions to tongue on the neural responses to 4 basic taste substances in rats

○Yamazaki M¹, Tanaka M¹, Sako N², Kawano S¹

¹Dept Endodont, Asahi Univ Sch Dent, ²Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent

In root canal treatment, chemical cleaning using with root canal irrigation solutions as well as mechanical cleaning with root canal instruments and performed. In clinical scene, the leaks of these root canal irrigation solutions to oral cavity are important problem. However, it is not known well how these leaks bring about the effects for taste receptors. In the present study, therefore, we recorded and compared the whole chorda tympani nerve responses of male Wistar/ST rats (8-9w;n=7) to 4 basic taste stimuli, such as 0.1M NaCl, 0.5M sucrose, 10 mM HCl and 0.02M quinine hydrochloride, before and after tongue treatment with 3% sodium hypochlorite or 3% EDTA (1 min for each), as typical root canal irrigation solutions. The results follow; There was no significant change in the chorda tympani nerve response to any tested taste stimuli before and after tongue treatment with 3% EDTA. But when 3% sodium hypochlorite was treated on the tongue, the response to all tested taste stimuli were suppressed strongly without depending on the taste quality. These results suggest that sodium hypochlorite works as an extreme suppressant to taste receptor. We must use sodium hypochlorite with our best carefulness.

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

2-P2-P66 茸状乳頭を支配する三叉神経節細胞の受容野特性

○佐藤 元, 安達 一典

明海大 歯 薬理

【目的】舌の茸状乳頭 (FP) は鼓索神経 (CT) と舌神経 (LN) の両者に支配され、特徴的な形態/機能を有する感覚器官である。CT の細胞体が存在する膝神経節 (GG) には、味覚以外の感覚にも応答を示す細胞が存在し、それらの受容野 (RF) が同定されている。一方、同じ FP を支配する LN/三叉神経節細胞 (TGNs) の詳細は不明である。そこで、本研究では、舌への感覚刺激に応答する LN/TGNs の RF 特性を明らかにすることを目的とする。【方法】全身麻酔下で SD ラット (雌, 250-300 g) の右側 TG を剖出した。コラゲナーゼ (Type II/XI, 2 mg/ml) を含んだ人工脳脊髄液に 10-15 分間浸漬後、微小タングステン電極 (0.9-1.8 M Ω) を TG 舌領域に刺入し細胞外記録を行った。まず、各 FP をフォンフライフィラメントで刺激し、応答の有無から RF を決定した。次に、ロードセルを用いて RF 中心部へ圧刺激を与え、TGNs 応答を速順応性 (RA) 或いは遅順応性 (SA) に分類した。最後に、記録を継続しながら舌への温度刺激 (4°C/25-30°C) 或いは味刺激に対する TGNs 応答の有無を確認した。【結果と考察】RA-RFs は SA-RFs に比べて主に舌先付近に分布する傾向を示した (RA-RFs:SA-RFs = 13:20)。一方、1つの RF 中の FP 数は RA (6 ± 3 , range = 2-11) と SA (3 ± 2 , range = 2-7) で同程度であった。RFs の大部分は丸形であった。一部の RFs は吻尾側へ FP が線状に連なる形を呈したが、その RA/SA 比は同等であった。圧刺激に応答した TGNs の一部は温度刺激にも応答したが (RA:SA = 4:9)、味刺激には応答しなかった。以上の結果から、FP を支配する TGNs は多様な RFs を持つことが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Receptive field characteristics of rat lingual nerve/trigeminal ganglion neurons innervating fungiform papillae

○Sato H, Adachi K

Div Pharmacol Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent

Anterior tongue fungiform papillae (FP) are complex sensory organs innervated by chorda tympani (CT) and lingual (LN) nerves. CT fungiform geniculate ganglion (GG) neurons are multimodal and variable in receptive field (RF) characteristics, while response and RF characteristics of LN fungiform trigeminal ganglion (TG) neurons have not been investigated. To examine these characteristics of LN/TG neurons, we recorded extracellular responses of single LN/TG neurons to tactile stimuli to each fungiform papilla and taste and thermal stimulus to the whole tongue. Thirty-three single mechanoreceptive LN/TG units were isolated. Thirteen and 20 neurons were classified as rapidly adapting (RA) and slowly adapting (SA), respectively. RA-RFs were mainly accumulated at the tongue tip and contained 6 ± 3 FP (range = 2-11). On the other hand, SA-RFs were observed across anterior tongue and were contained 3 ± 2 (range = 2-7) FP. Most RFs were oval-shaped, whereas 8 were linearly (rostrocaudal) arranged (RA:SA = 4:4). Although some LN/TG neurons also responded to thermal stimuli (RA:SA = 4:9), no neurons responded to taste stimuli. The mechanoreceptive/thermal RF contained 5 ± 3 FP. These results suggest that, as well as CT/GG, FP ascending pathway via LN/TG constitutes an exquisite multisensory system in the lingual organ.

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

2-P2-P67 ラットの膝神経節細胞における ACE2, TMPRSS2 および neuropilin-1 の発現について

○諏訪部 武, 安尾 敏明, 裕 哲崇, 中村 文彦

朝日大 歯 口腔生理

重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2 (SARS-CoV-2) は、神経細胞に感染して複製する能力を持つ神経向性ウイルスであることが示唆されている。SARS-CoV-2 の細胞侵入過程において SARS-CoV-2 はレニン-アンジオテンシン系の調節因子であるアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) に結合し、2 型膜貫通型セリンプロテアーゼ (TMPRSS2) の働きで SARS-CoV-2 の膜と宿主細胞の膜の融合が引き起こされること、また神経回路の発生過程で軸索誘導に関与する neuropilin-1 (NRP1) が新型コロナウイルス感染では SARS-CoV-2 の感染力を増強することが報告されている。新型コロナウイルス感染症の初期症状や後遺症として味覚障害が報告されていることから、本研究では、SARS-CoV-2 が味覚ニューロンに侵入する可能性を検証するため、舌と軟口蓋を支配する味覚ニューロンおよび耳介を支配する体性感覚ニューロンからなる膝神経節における ACE2, TMPRSS2, NRP1 の遺伝子発現について検討した。麻酔下のラットから膝神経節を採集し、膝神経節から全 RNA を抽出し、逆転写によって RNA テンプレートから cDNA を合成した。遺伝子発現レベルはリアルタイム PCR により決定した。ACE2, TMPRSS2 および NRP1 mRNA の発現が膝神経節で認められた。この結果は、SARS-CoV-2 が味覚ニューロンへ侵入する可能性を示唆する。また SARS-CoV-2 と ACE2 の結合に伴う ACE2 のダウンレギュレーションが味覚ニューロンの活動に影響を及ぼす可能性を示唆する。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Expression of ACE2, TMPRSS2 and neuropilin-1 in rat geniculate ganglion cells

○Suwabe T, Yasuo T, Sako N, Nakamura F

Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is a neurotropic virus with the capacity to infect and replicate in neuronal cells. SARS-CoV-2 binds to the SARS-CoV receptor angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) for host cell entry. Fusion of the viral membrane with host cell membrane is induced by the transmembrane serine protease 2 (TMPRSS2). Neuropilin-1 (NRP1) potentiates the viral infectivity. In this study, to clarify the existence of the cell entry mechanism of SARS-CoV-2 in gustatory neurons, ACE2, TMPRSS2 and NRP1 in the geniculate ganglion that contains gustatory neurons innervating the tongue and soft palate and somatosensory neurons innervating the pinna. Geniculate ganglion was collected from anesthetized rats, total RNA was extracted from the geniculate ganglion, and cDNA was synthesized from the RNA template by reverse transcription. Gene expression levels were determined by real-time PCR. Expression of ACE2, TMPRSS2 and NRP1 mRNAs was observed in the geniculate ganglion. This result suggests that SARS-CoV-2 may invade the gustatory neurons. It also suggests that the downregulation of ACE2 associated with the binding of SARS-CoV-2 to ACE2 may affect the activity of the gustatory neurons.

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

2-P2-P68 レプチンによる甘味細胞応答の抑制メカニズム

○吉田 竜介

岡大 院医歯薬 口腔生理

レプチンは脂肪細胞から放出される、摂食抑制に働くホルモンであり、甘味応答を抑制することが知られている。そのターゲットは甘味受容細胞であり、レプチン受容体 Ob-Rb を介し K_{ATP} チャネルを活性化することで甘味細胞の応答を抑制することを以前に報告した。しかしながら、Ob-Rb から K_{ATP} チャネルに至る細胞内シグナル伝達経路については明らかとなっていない。本研究では、甘味細胞におけるレプチンのシグナル経路 (PI3 キナーゼ, STAT3, SHP2 の関与) について検討した。甘味細胞を同定するため、甘味受容体コンポーネント TAS1R3 を発現する細胞が GFP を発現する遺伝子改変マウスを用い、味孔側と基底側を完全に区別して刺激できる独自の味細胞応答記録システムによって TAS1R3 発現味細胞からショ糖に対する応答を記録した。そのショ糖応答は、基底側へのレプチン投与により一部の TAS1R3 発現細胞で抑制されたが、PI3K キナーゼ阻害剤によりその効果は消失した。一方、STAT3 阻害剤や SHP2 阻害剤は効果を示さなかった。また、酵素処理により剥離した舌上皮標本を用い、レプチン刺激による PIP_3 の産生を免疫組織化学的に検討したところ、一部の TAS1R3 発現細胞で PIP_3 産生が見られ、これは PI3 キナーゼ阻害剤により抑制された。また同様に、レプチン刺激により一部の TAS1R3 発現細胞で Ark のリン酸化が確認された。以上の結果から、レプチンは味細胞に発現する Ob-Rb を介し、PI3 キナーゼを活性化することで PIP_3 を産生し、また Arc のリン酸化が生じ、これらにより K_{ATP} チャネルが活性化されることで甘味応答を抑制すると考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

The mechanism for sweet suppressive effect of leptin in sweet sensitive taste cells

○Yoshida R

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

Leptin, an anorexigenic hormone released from the adipose tissue, selectively suppresses neural and taste cell responses to sweet compounds. Sweet suppressive effect of leptin is mediated by the leptin receptor Ob-Rb, and the ATP-gated K^+ (K_{ATP}) channel expressed in some TAS1R3-positive taste cells. However, the intracellular signaling pathway from Ob-Rb to the K_{ATP} channel is not known. Here, the intracellular transduction pathway mediating leptin's effect in TAS1R3-positive taste cells is investigated. Bath application of leptin suppressed sweet responses of some TAS1R3-positive taste cells in our system for recording in situ taste cell responses. This effect was impaired by coapplication of phosphoinositide 3-kinase (PI3K) inhibitors. In contrast, signal transducer and activator of transcription 3 inhibitor or Src homology region 2 domain-containing phosphatase-2 inhibitor had no effect on leptin's suppression of sweet responses. In peeled tongue epithelium, leptin stimulated phosphatidylinositol (3, 4, 5)-trisphosphate (PIP_3) production and phosphorylation of Akt in TAS1R3-positive taste cells, which were suppressed by the PI3K inhibitors. Taken together, leptin suppresses sweet responses of TAS1R3-positive taste cells by activation of the Ob-Rb-PI3K- K_{ATP} channel pathway.

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

2-P2-P69 プロテアソーム阻害薬による末梢神経障害の評価

○飯島 洋介¹, 山田 美喜¹, 佐野 元彦², 堀江 憲夫¹, 金子 貴広¹, 坂上 宏³

¹埼玉大医セ 歯口外, ²星薬大 実務教育研, ³明海大 歯科医学総合研

【目的】 抗がん剤には、がん細胞を傷害するという利点と共に正常細胞を傷害するという欠点がある。分子標的治療薬は、殺細胞性の抗がん剤と違い細胞に対する傷害性が少ないとされる。しかし、多発性骨髄腫治療薬でプロテアソーム阻害薬である Bortezomib は、多種類のがん細胞にアポトーシスを誘導するとともに、高頻度に末梢神経障害を発生させるという欠点がある。我々も、第 61 および 62 回歯科基礎医学会学術大会において、Bortezomib が、高い腫瘍選択性を示すと同時に、分化した神経細胞に対して強い細胞傷害性を示すことを報告した。今回、第一世代の Bortezomib と、末梢神経障害が少ないとされる第二世代プロテアソーム阻害薬 Carfilzomib の各種癌細胞、正常細胞、神経様細胞に対する傷害性について、比較検討を行った。【方法】 ヒト扁平上皮がん細胞 (Ca9-22, HSC-2, HSC-3, HSC-4), ヒト間葉系口腔正常細胞 (HGF, HPLF, HPC), 肺がん細胞 (A549, WA-hT), 肺線維芽細胞 (TIG-3), NGF 存在下で分化誘導したラット神経様 PC12 細胞は、10% 非働化 FBS を含む DMEM 培地で培養した。細胞を、種々の濃度の Bortezomib および Carfilzomib と 48 時間培養し、相対的生細胞数を MTT 法により決定した。腫瘍選択性は、正常細胞に対する CC50 値を、がん細胞に対する CC50 値で割り求めた。【結果・考察】 Carfilzomib は、肺がん細胞よりも、口腔扁平上皮がん細胞に対して強い傷害性を示した。Carfilzomib の神経毒性は、Bortezomib の約 1/6 であった。しかし、腫瘍選択性と神経傷害は強くカップルしており、抗がん剤として適用に関しては更なる検討が必要である。神経傷害軽減のメカニズムについて、アポトーシスの誘導が関与するか否か検討する予定である。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Evaluation of peripheral neuropathy of proteasome inhibitor

○Iijima Y¹, Yamada M¹, Sano M², Horie N¹, Kaneko T¹, Sakagami H³

¹Dept Oral Maxillofac Surg, Saitama Med Univ Saitama Med Cent, ²Div Appl Pharmaceut Educ Res, Hoshi Univ, ³Meikai Univ Res Inst Odontol

[Purpose] Some anticancer drugs can cause peripheral neuropathy. Among them, bortezomib frequently causes peripheral neuropathy. We have reported previously in the 61st and 62nd annual meeting of JAOB that Bortezomib showed the first class of anti-cancer potential and neurotoxicity against rat differentiating PC12 neuronal cells. In the present study, we compared the neurotoxicity between the first-generation proteasome inhibitor Bortezomib and the second-generation proteasome inhibitor Carfilzomib. [Methods] Viable cell number was determined by MTT method. Tumor-specificity was calculated by dividing the CC50 for normal cells by CC50 for tumor cells. [Results and Discussion] Carfilzomib showed higher cytotoxicity against human oral squamous cell carcinoma cell lines than against lung cancer cell lines. Carfilzomib showed approximately 6-fold lower neurotoxicity than Bortezomib, but its tumor-specificity was also lower than that of Bortezomib, suggesting the importance of reconsidering the applicability as an anticancer drug. The possible involvement of apoptosis in lower incidence of neurotoxicity by Carfilzomib is under study.

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

2-P2-P70 アドレノメデュリンによるマウス鼓索神経甘味応答増強機構の解明

○岩田 周介^{1,3}, 吉田 竜介², 高井 信吾¹, 實松 敬介^{1,3}, 重村 憲徳^{1,3}, ニノ宮裕三⁴

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 感覚生理・医療応用センシング部門, ⁴Monell Chemical Senses Center

近年, 我々や他のグループにより, 甘味にはノンカロリー人工甘味料も受容する T1R2/T1R3 受容体経路以外に, 糖輸送体を介する糖特異的カロリー受容経路も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ノンカロリー甘味物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 (Glendining 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, 一方で人工甘味料やその他の味溶液では変化は生じないことがわかった. この ADM による特定の甘味物質に対する増強効果は, ADM 受容体阻害薬 AM22-52 前投与により消失した. さらに, T1R3-KO マウスでは, 10 mM 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 フロリジンで消失した. さらに, この増強効果が T1R3 非依存性経路を介し生じている可能性を調べるため, 舌前部剥離標本を用いた蛍光グルコースの味細胞取り込み実験を用い ADM 投与によるマウス味蓄におけるグルコース取り込み量の変化, 及び qRT-PCR を用い各甘味受容体発現量への影響を調べた.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Adrenomedullin increases mouse chorda tympani nerve responses to sugars via T1R-independent mechanisms

○Iwata S^{1,3}, Yoshida R², Takai S¹, Sanematsu K^{1,3}, Shigemura N^{1,3}, Ninomiya Y⁴

¹Sect Oral Neurosci, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²Dept Oral Physiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ³Div Sensory Physiol Med Appl sensing R&D Cent for Five-Sense Device Kyushu Univ, ⁴Monell Chemical Senses Center

Recent studies by ours and others have showed that there may be a T1Rs-independent (SGLT/GLUTs, KATP Channel) pathway for detecting only sugars in addition to a T1Rs-dependent (T1R2/T1R3) pathway which detects not only sugars but artificial sweeteners (AS) as well (Sukumaran et al, 2016). A cephalic phase insulin release (CPIR) can be induced by oral administration of sugars, but not AS in Wild type and T1R3-KO mice. And incapacitation of the KATP pathway abolishes CPIR, suggesting a possibility that T1Rs-independent and -dependent pathways may function independently of one another (Glendining et al. 2017). However, details still remain unknown. In the gut enterocytes, expression of SGLT1 was shown to increase after administration with Adrenomedullin (ADM), a biologically active peptide (Fernandez et al., 2005). We found that administration of ADM significantly enhanced mouse chorda tympani nerve responses to sugars but not to AS, 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, and on the expression level of sweet taste receptors on taste cells by qRT-PCR.

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

3-P1-P71 軟食飼育が若齢マウスの視床下部および海馬に及ぼす影響

○古川 匡恵, 四釜 洋介, 松下 健二

国立長寿医療研究セ 口腔

近年, 咀嚼が全身に様々な影響を与えていることが示唆され, 咀嚼の重要性が再認識されている. 機能性栄養食品や栄養補助食品としてゼリー状の食品が簡単に手に入るようになり, 若年者から老年者まで咀嚼をしなくとも栄養補給が可能になった. 一方で, 粉末食による寿命の短縮や早期老化の報告がある. 本研究は, 長期間軟食を与えて飼育した若齢マウスの視床下部や海馬における老化関連遺伝子の変化, 24 時間活動性や情動行動の変化等の検討を目的とした. 実験群は, 7 週齢の C57BL6Nslc マウスを 3~6 ヶ月間固形食で飼育したコントロール群 (YC 群), 3~6 ヶ月間軟食を与えた群 (YS 群), 3 ヶ月目で固形食に戻した群 (YSH 群), の 3 群である. 飼育期間中に各種行動実験を行った. 屠殺後, 脳組織を回収し, 海馬および視床下部における老化関連遺伝子および寿命関連因子の発現を検討した. マウスは軟食飼育をしても体重や生命維持には異常をきたさないものの, 海馬および視床下部において老化関連分子の増加とともに神経細胞の減少やミクログリアの増加に関連する分子の発現増加が観察された. また行動実験の結果, YS 群において夜間の行動量の増加が見られ, それは固形食に戻しても強く残存した. YC 群と比較し YS 群, YSH 群において認知機能や運動機能の低下が認められた他, YS 群と YSH 群において強い攻撃性がみられた. これらのことから, 軟食は脳の老化や行動および情動の変調に強く影響する可能性が明らかとなった.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Effects of soft diet on the hypothalamus and hippocampus of young mice

○Furukawa M, Shikama Y, Matsushita K

NCGG ODR

The purpose of this study was to examine changes in aging-related genes in the hypothalamus and hippocampus as well as changes in 24-hour activity and emotional behavior in young mice raised on a soft diet. The experimental groups were a control group of 7-week-old C57BL6Nslc mice fed a solid diet for 3-6 months (YC group), a group fed a soft diet for 3-6 months (YS group), and a group returned to a solid diet at 3 months (YSH group). Behavioral experiments were conducted during the rearing period. After being sacrificed, brain tissues were collected to examine the expression of aging-related genes and lifespan-related factors in the hippocampus and hypothalamus. Increased expression of molecules related to a decrease of neurons and increase of microglia as well as an increase in aging-related molecules was observed in the hippocampus and hypothalamus in soft diet-fed mice. The YS group showed an increase in behavior at night, even after returning to a solid diet, and the YS and YSH groups showed a decrease in cognitive and motor functions and strong aggression. The results indicate that a soft diet may have a strong influence on brain aging and behavioral and emotional modulation.

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

3-P1-P72 MyD88 は雌 NOD マウスの唾液腺においてインターフェロン制御遺伝子の発現に関与する

○森 大気, 片岡 嗣雄, 引頭 毅

朝日大 歯 口腔微生物

【目的】シェーグレン症候群 (SS) は全身性自己免疫疾患の一つであるが、特にリンパ球浸潤を伴う慢性炎症に起因して唾液腺や涙腺の機能障害を呈するのが特徴である。雌の non-obese diabetic (NOD) マウスは、SS 様の炎症性唾液腺病変を自然発症するモデルマウスであり、我々はこれまでに、自然免疫系のシグナル伝達を担う分子 MyD88 の遺伝子を雌 NOD マウスから欠失させると、リンパ球浸潤の発生頻度や炎症性サイトカインの産生が減少することを報告してきた。本研究では、*Myd88* 欠損が雌 NOD マウスの唾液腺における SS 様症状初期の遺伝子発現に与える影響を解析したので報告する。

【方法】10 週齢雌の野生型 NOD マウスおよび *Myd88* 欠損 NOD マウスから顎下腺を摘出し、全 RNA を抽出してマイクロアレイ解析に供した。マイクロアレイデータセットから、*Myd88* 欠損マウスにおいて発現差のある遺伝子群 (DEGs) を特定し、オープンデータベースなどを利用したインフォマティクス解析を行った。

【結果・考察】*Myd88* 欠損マウスにおいて *Cxcl9* や *Bpifa2* などの SS 関連遺伝子を含む 230 個の DEGs が見出された。GO エンリッチメント解析を行った結果、DEGs の多くは免疫学的プロセスに関与する遺伝子であることが明らかになった。また KEGG によるパスウェイ解析から、DEGs が全身性エリテマトーデスや関節リウマチなどの自己免疫疾患にも関連していることが示唆された。さらに INTERFEROME データベースによる解析から、DEGs は 149 個のインターフェロン (IFN) 制御遺伝子を含むことが明らかになった。

【結論】MyD88 は雌 NOD マウスの唾液腺における SS 様症状の初期段階において、IFN に関連した免疫学的プロセスに関わる遺伝子群の発現に関与することが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

MyD88 is involved in expression of IFN-regulated genes in salivary glands of female non-obese diabetic (NOD) mice

○Mori T, Kataoka H, Into T

Dept Oral Microbiol Div Oral Infect Health Sci, Asahi Univ Sch Dent

Objectives: Sjögren's syndrome (SS) is a systemic autoimmune disease especially characterized by inflammatory lesions in the salivary and lacrimal glands. Female non-obese diabetic (NOD) mice spontaneously develop SS-like inflammatory lesions in the salivary glands. We have previously shown that MyD88, a crucial signaling molecule in the innate immunity, affects lymphocytic infiltration and expression of inflammatory cytokines. In this study, we report the role of MyD88 in gene expression profiling in the early phase of pathogenesis in the salivary glands of female NOD mice.

Methods: Submandibular glands were collected from 10-week-old female wild-type and *Myd88*-deficient NOD mice. Total RNA was extracted and used for microarray analysis. *Myd88*-dependent differentially expressed genes (DEGs) were determined from the microarray dataset and used for informatics analyses using open source databases.

Results: *Myd88* deficiency was found to affect 230 DEGs, including SS-associated genes, such as *Cxcl9* and *Bpifa2*. Most of the DEGs were identified as being involved in immunological processes. KEGG pathway analysis indicated that the DEGs were putatively involved in several autoimmune diseases. Furthermore, the DEGs included 149 interferon (IFN)-regulated genes.

Conclusion: MyD88 is involved in expression of the specific genes associated with IFN-associated immunopathological processes in the salivary glands of NOD mice.

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

3-P1-P73 骨形成異常ラットにおける小腸刷子細胞の免疫組織学的解析

○安尾 敏明, 諏訪部 武, 中村 文彦, 裕 哲崇

朝日大 歯 口腔生理

超高齢社会の日本において、フレイルの有病率は7%となっており、大きな社会問題となっている。このフレイルの危険因子の一つに偏食があり、偏食の結果生じた栄養失調（栄養不足）または栄養過剰はフレイル状態を促進することが広く知られている。近年、味物質を検知する『味覚センサー』が、口腔のみならず腸管にも存在し、摂取した食品の情報を脳へ伝えることで、エネルギー代謝を変化させるという『味覚センサーを起点とした口腔脳腸連関』の存在が示された。私たちは偏食がこの『口腔脳腸連関』へ及ぼす影響を明らかにするため、これまでに行動的・神経科学的解析を行い、ビタミンC（以下、VC）合成能が欠如し、VC欠乏により骨形成異常を呈する ODS/shiJcl-od/od ラット（以下、OD ラット）において、VC欠乏時に摂取行動が変化し、食欲不振、体重減少や一部の味質に対する鼓索神経応答が低下する可能性を報告してきた。また、味覚センサーを発現する腸管の刷子細胞がエネルギー代謝や免疫に関わること、この腸管刷子細胞が寄生虫感染時にインターロイキン25を産生し、2型自然リンパ球を活性化することで杯細胞と共に過形成すること、ODラットではVC欠乏時に血中の炎症誘発性サイトカインが上昇し回腸の杯細胞が増加することやVC欠乏症では腸管出血等の胃腸症状が出現することが報告されている。そこで、本研究では、VC欠乏が回腸刷子細胞の過形成を引き起こすのかどうかを明らかにするために、ODラットをVC欠乏群と非欠乏群の2群に分け、免疫組織化学染色法にて、両群の回腸における刷子細胞のマーカー分子であるDCAMKL1陽性細胞数を解析した。その結果、両群間において絨毛の長さあたりのDCAMKL1陽性細胞数に有意差は認められなかった。以上の結果から、ODラットの回腸に刷子細胞が存在するが、VC欠乏により回腸刷子細胞の過形成は起きない可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Immunohistological analysis of small intestinal tuft cells in osteogenic disorder rat

○Yasuo T, Suwabe T, Nakamura F, Sako N

Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent

It is well known that either malnutrition or overnutrition can precipitate frailty. Previously we showed that vitamin C (VC) deficiency causes anorexia, reduction of taste nerve responses in osteogenic disorder Shionogi (ODS) rats, which are incapable of VC synthesise. Recent studies have shown that taste signaling molecules are expressed in the gastrointestinal tract, especially, in intestinal tuft cells, which are involved in regulating metabolism and immunity. It is known that the infections by helminth parasites can induce tuft and goblet cell hyperplasia. It was reported that the number of goblet cells per villi in the ileum was increased in the VC-deficient ODS rats compared with nondeficient rats. This study aimed to determine if VC deficiency induce tuft cell hyperplasia. These rats were assigned to either a VC-deficient group or a nondeficient group. Using immunohistochemistry, we observed the protein expressions of DCAMKL1, which is maker for tuft cells, in ileum of ODS rats. As a result, there was no significant difference in the number of DCAMKL1-positive cells per villi between VC-deficient group and nondeficient group. This suggest that intestinal tuft cells may be present in ileum of ODS rats and VC deficiency did not induce tuft cell hyperplasia in ileum.

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

3-P1-P74 S-PRG フィラー溶出液が TNF- α 刺激ヒト歯肉線維芽細胞の MMP 分泌に及ぼす影響

○井上 博, 毛 丹, 合田 征司

大歯大 生理

S-PRG (surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer) フィラーは、6 種類のイオン(F, Na, Al, B, Sr, Si)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) S-PRG を MEM- α で希釈した溶液を作製し 10% FBS を加えて細胞増殖能を検討した。その結果、1/100 以上に希釈した溶液においては対照群と同様の細胞増殖能を示した。2) 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。3) TNF- α 刺激した HGF に希釈した S-PRG フィラー溶出液を加え、ウエスタンブロットリングにより 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的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 のリン酸化が関与している可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effect of S-PRG filler eluate on MMP 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). Cell proliferation assays were performed by diluting S-PRG with MEM- α in 11 steps from 1 to 1/10000. As a result, in the solution diluted to 1/100 or more showed a cell proliferation similar to the control group. 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. 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. Furthermore, it was suggested that phosphorylation of ERK may be involved in this inhibitory mechanism.

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

3-P1-P75 BMP9 は PI3K-Akt シグナル経路を介して骨芽細胞の HIF-1 α 蛋白発現を誘導する

○松口 徹也, 千葉 紀香, 大西 智和

鹿大 院医歯 口腔生化

【目的】転写因子 HIF-1 α は低酸素下において発現誘導され、血管新生や細胞内エネルギー代謝などを調節するが、骨格発達における役割も知られる。我々は BMP (骨形成タンパク質) 9 刺激が骨芽細胞における HIF-1 α 蛋白発現を誘導することを報告した。今回、BMP9 刺激骨芽細胞における HIF-1 α 蛋白発現誘導の分子機構と骨芽細胞分化誘導シグナルにおける機能的役割を解析した。【方法】マウス新生仔頭蓋骨由来骨芽細胞およびマウス骨芽細胞株 (MC3T3-E1) を、リコンビナント BMP9, BMP2 で刺激し、ウェスタンブロッティング法によって細胞内シグナル伝達分子の活性化を、定量 RT-PCR 法にて BMP 反応性の遺伝子発現誘導を解析した。また、Tet-On システムによる Smad6 (抑制性 Smad) 発現誘導、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ける BMP9 による HIF-1 α タンパク発現誘導は、Hif-1 α mRNA の増加を伴わず、Chrysin (PHD 活性化剤) によって抑制されたが、NSC697923 (Ubc13 阻害剤) では抑制されなかった。Smad6 発現による Smad1/5 活性抑制や ERK, p38 キナーゼの特異的阻害剤は BMP9 による HIF-1 α タンパク発現誘導に影響しなかったが、PI3 キナーゼ、Akt 特異的阻害剤は著明に抑制した。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 の誘導は変化を受けなかった。BMP9 刺激による骨芽細胞分化については、骨基質石灰化とオステオカルシン等の骨分化マーカー 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 刺激は、PI3 キナーゼ-Akt シグナル経路を介して HIF-1 α 蛋白発現量を上昇させ、解糖系酵素 PDK1 発現誘導を介して骨芽細胞分化に重要な役割を果たすことが明らかとなった。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

BMP9 induces HIF-1A protein expression in osteoblasts through PI3K-Akt axis

○Matsuguchi T, Chiba N, Ohnishi T

Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

[OBJECTIVE] HIF-1A is a well-established hypoxia-responsive protein inducing angiogenesis and glycolysis. We have previously reported that osteogenic BMPs directly increase HIF-1A protein expression in osteoblasts. Here, we investigated the molecular mechanisms and functional roles of BMP9-induced HIF-1A induction in osteoblasts. [RESULTS] HIF-1A protein expression was significantly induced by both BMP9 in mouse osteoblasts within 2 hours. Chrysin (PHD activator), but not NSC697923 (Ubc13 inhibitor), inhibited BMP9-induced Hif-1A protein expression. HIF-1A induction by BMP9 was significantly reduced by specific inhibitors of PI3K and Akt but was not affected by inhibitors of ERK or p38 kinase as well as the overexpression of Smad6, an inhibitory Smad. When HIF-1A expression was knocked down by siRNA, the mRNA induction of PDK1, but not that of VEGFA, was significantly inhibited. Mineralization of osteoblasts was inhibited by HIF-1A or PDK1 inhibitor, while mRNA expression of osteogenic markers, such as osteocalcin, was significantly inhibited by knockdown of either HIF-1A or PDK-1. [CONCLUSION] HIF-1A protein expression is rapidly induced by BMP9 through PI3K-Akt signaling axis. Hif-1A expression is essential for the induction of a glycolytic enzyme, PDK1, and osteogenic differentiation in BMP9-stimulated osteoblasts. Thus, HIF-1A expression is important in BMP9-mediated osteoblast differentiation through the induction of PDK1.

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

3-P1-P76 phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)による Nephronectin 遺伝子発現抑制は PKC シグナル伝達経路を介して行われる

○木下 三博, 山田 篤, 上條竜太郎

昭大 歯 口腔生化

細胞外マトリックスタンパク質 Nephronectin (Npnt) は、生体内の様々な組織、なかでも腎臓・歯・骨などの器官形成や機能において重要な役割を果たしていることが知られている。Npnt は骨形成を促進する作用を有することが知られており、Npnt の発現制御に関する作用機序を解明することは、骨代謝における基礎的研究として肝要であると考えられる。本研究では骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 細胞における Npnt の発現制御因子を検討する中で、protein kinase C (PKC) シグナルを活性化する phorbol-12-myristate 13 acetate (PMA) に Npnt の発現を強く抑制する作用を有することを見出した。PMA は MC3T3-E1 細胞の分化誘導を抑制し、Npnt の遺伝子発現を濃度および時間依存的に抑制した。そこで、PKC シグナル伝達阻害剤 Go6983 を作用させたところ、PMA による Npnt 遺伝子発現の抑制が阻害された。PKC ファミリータンパク質の中で、骨代謝への関与が報告されている PKC α の発現を siRNA により低下させた際の PMA による Npnt 遺伝子発現様式を検討したところ、Npnt 遺伝子発現の抑制が阻害された。また、PKC シグナル伝達の下流に存在する転写因子 c-Jun および c-Fos の発現を siRNA により低下させた際の PMA による Npnt 遺伝子発現様式を検討したところ、Npnt 遺伝子発現の抑制が阻害された。これらの結果から PMA による Npnt の遺伝子発現抑制は PKC シグナル伝達経路を介して行われることが示唆され、骨形成の細胞内メカニズムの一部が明らかとなった。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Nephronectin gene expression is suppressed by phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) via PKC signaling pathway

○Kinoshita M, Yamada A, Kamijo R

Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent

Nephronectin (Npnt), identified as an extra-cellular matrix protein, is considered to play important roles in the development and functions of various organs. Npnt is also known to have an action of promoting bone formation, so it is important to examine its expression control mechanism as a basic research on bone metabolism. In the present study, we examined the molecular mechanism of Npnt gene expression in osteoblasts and found that phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA), which activates protein kinase C (PKC), had a strong effect to suppress that expression. Research was then conducted to elucidate the signaling pathway responsible for regulation of Npnt gene expression by PMA in osteoblasts. Treatment of MC3T3-E1 cells, an osteoblast-like cell line, with PMA suppressed osteoblastic differentiation and Npnt gene expression. PMA-mediated Npnt gene expression was suppressed in a time- and dose-dependent manner. Furthermore, treatment with the PKC signal inhibitor, Go6983 inhibited down-regulation of Npnt gene expression by PMA. Furthermore, transfection with small interfering RNA (siRNA) of PKC α , c-Jun, and c-Fos suppressed down-regulation of Npnt gene expression by PMA. The present results suggest that Npnt gene expression is suppressed by PMA via protein kinase C signaling pathway.

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

3-P1-P77 神経ペプチド VIP-VPAC2 受容体シグナルは、がん細胞遊走を制御する新規の分子機構である

○浅野 智志, 吾郷由希夫

広大院医 細胞分子薬理

細胞の遊走にはイノシトールリン脂質代謝が必要で、その代謝異常はしばしば癌細胞の転移を促進させる要因となる。細胞が移動する際、遊走細胞の移動端で葉状仮足が形成される。これには、イノシトールリン脂質の一つであり、細胞膜の主成分である PI(4, 5)P₂ が代謝され、PI(3, 4, 5)P₃ が産生される必要がある。PI(3, 4, 5)P₃ は細胞膜において WASP family verprolin homologous protein 2 (WAVE2) と結合する。さらに WAVE2 は small GTPase の Ras-related C3 botulinum toxin substrate (Rac) と相互作用することで活性型となり、actin-related protein 2/3 (ARP2/3) 複合体を介してアクチン重合を促進させ、葉状仮足が形成される。本研究では、血管作動性腸管ペプチド (vasoactive intestinal peptide:VIP) の受容体の一つである VIPR2/VPAC2 が細胞遊走に関与しているかについて検討を行った。ヒト乳癌細胞 MCF-7 を VIP で刺激すると、細胞遊走が促進され、VPAC2 のノックダウンによって遊走能が減衰した。一方、外来 VPAC2 を安定発現させると、遊走能はさらに亢進した。また、過剰発現させた VPAC2 は葉状仮足に集積し、WAVE2 と共局在していた。VPAC2 をノックダウンすると、細胞膜近傍の WAVE2 や PI(3, 4, 5)P₃ が減少し、WAVE2-ARP-actin 間の相互作用が抑制されることがわかった。これらの結果は、VIP-VPAC2 シグナリングが PI(3, 4, 5)P₃ の産生を促進させ、WAVE2 が仲介する葉状仮足形成に必要なアクチン重合を調節することによって、癌細胞移動を制御していることを示唆している。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

The neuropeptide VIP-VPAC2 signaling is a novel mechanism of regulating tumor cell migration

○Asano S, Ago Y

Dept Cell Mol Pharmacol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

Phosphoinositide (PI) metabolism is critically involved in cell migration, and its functional breakdown promotes cancer cell migration and metastasis. Lamellipodia are formed at the leading edge of migrating cells, and lamellipodium formation is regulated by the metabolism of PI(4, 5)P₂, an inositol phospholipid, into PI(3, 4, 5)P₃. The synthesized PI(3, 4, 5)P₃ promotes the translocation of WASP family verprolin homologous protein 2 (WAVE2) to the plasma membrane and regulates guanine nucleotide exchange factor Rac-mediated actin filament remodeling. WAVE2 drives lamellipodium formation by enhancing actin nucleation via the actin-related protein 2 and 3 (ARP2/3) complex. Here, we investigated whether VPAC2/VIPR2, a receptor for vasoactive intestinal peptide (VIP), has a potential role in regulating cell migration. Silencing of VPAC2 in human breast cancer cells MCF-7 inhibited VIP-induced cell migration. In contrast, VPAC2 stably expressing-MCF-7 cells exhibited increased cell migration. In MDA-MB-231 breast cancer cell line, overexpressed VPAC2 was accumulated to lamellipodia and colocalized with WAVE2. Conversely, VPAC2 silencing reduced the expression of WAVE2 and PI(3, 4, 5)P₃ on the plasma membrane. Additionally, VPAC2 silencing reduced the interaction between WAVE2, ARP3, and actin. In conclusion, our results suggest VIP-VPAC2 receptor signaling controls cancer migration by regulating WAVE2-mediated actin nucleation and elongation for lamellipodium formation through the synthesis of PI(3, 4, 5)P₃.

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

3-P1-P78 NF- κ B, p65 の 534 番目のリン酸化は閉経後骨粗鬆症と体重増加に関与する

○黄 菲¹, 高 靖¹, 自見英治郎^{1,2}

¹九大 院歯 口腔細胞工学, ²九大 院歯 OBT 研究セ

The involvement of serine 534 phosphorylation of NF- κ B, p65 in the bone loss and obesity in ovariectomized mice

○Huang F¹, Gao J¹, Jimi E^{1,2}

¹Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Postmenopausal women have been reported to be at increased risk of fractures due to decreased bone density, diabetes and cardiovascular disorders due to weight gain. We and others have previously reported that anti-RANKL antibodies and NIK inhibitors that suppress the differentiation of osteoclasts not only suppress bone loss after ovariectomy, but also suppress weight gain, suggesting that common regulatory mechanism exists between bone loss and gain weight caused by estrogen deficiency. The purpose of this study is to investigate the mechanism that causes the decrease in bone density and weight gain due to estrogen deficiency at the cellular and molecular levels. We generated knock-in mice that NF- κ B activity was enhanced, by expressing a mutant p65 with an alanine-to-serine substitution at position 534 (the murine homolog of human Ser536) (S534AKI mice). Wild-type (WT) and S534AKI mice were performed sham operation or ovariectomy (OVX) and further maintained by normal diet for 10 weeks to analyze the energy and bone metabolism. Body weight changes were measured weekly, and at 10 weeks, white and brown adipose tissue weight was measured, and adipose and liver tissue sections were prepared. Insulin tolerance test (ITT) were performed at 8 weeks. Three-dimensional bone reconstruction and bone mineral density (BMD) were measured at 4 weeks by Micro-computed tomography (μ CT). S534AKI mice gained more weight than WT mice in OVX group. Correspondingly, the size and weight of both white and brown adipose tissue was bigger in S534AKI mice compared with WT mice in OVX group. Histological analysis showed the size of adipocyte of S534AKI mice was also larger than WT mice. S534AKI mice in OVX group had a less hepatic glycogen storage than other groups. S534AKI mice in OVX group were resistant to the glucose-lowering effect of insulin compared with WT mice. In addition, the BMD of both WT mice and S534AKI mice decreased 4 weeks after OVX. However, S534AKI mice showed lower BMD than WT mice in both sham and OVX group. Taken together, NF- κ B activity might be involved in bone loss and weight gain as a common regulator due to estrogen deficiency.

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

3-P1-P79 ヒト茸状乳頭味蕾細胞におけるうま味受容体 *TAS1R1* 遺伝子のプロモーター領域の解析

○豊野 孝, 松山 佳永, 片岡 真司, 瀬田 祐司

九歯大 健康増進 解剖

ヒト味蕾細胞におけるうま味受容体 *TAS1R1* 遺伝子の転写調節機構は、ほとんど明らかになっていない。そこで本研究では、ヒト初代茸状乳頭味蕾細胞を用いて *TAS1R1* 遺伝子の転写開始点の決定およびプロモーター領域の解析を行った。

5'-RACE (5'-rapid amplification of cDNA ends)法により得られた 18 クローンの転写開始点を解析した。その結果、*TAS1R1* 遺伝子のエクソン 1 の開始コドン上流 35bp, 37bp, 57bp, 61bp, 65bp および 67bp の 6 カ所に転写開始点を同定した。この中において開始コドン上流 37bp が主要な転写開始点で、6 クローンにおいて認められた。その転写開始点近傍およびその下流には、転写活性化に関わるイニシエーターおよび下流プロモーター配列と相同性が高い配列が認められた。*TAS1R1* 遺伝子の開始コドン上流 343bp におけるレポーターアッセイによるプロモーター領域の検索の結果、開始コドン上流 201bp の領域が、プロモーター領域として認められた。本領域中には、Sp/KLF ファミリーに属する転写因子が結合する GT box (CCCACCC)が存在し、ヒト以外の多くの動物種においてもその配列が保存されていた。そこで、GT box に変異を導入したレポータープラスミドを作成し、レポーターアッセイを行った結果、レポーター活性の低下が認められた。以上の結果から、開始コドン上流 201bp のヒト *TAS1R1* 遺伝子のプロモーター領域において、GT box が転写の活性化に重要な役割を果たしていることが推測された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Promoter analysis for human *TAS1R1* umami receptor gene in the human fungiform taste cells

○Toyono T, Matsuyama K, Kataoka S, Seta Y

Div Anat, Kyushu Dent Univ

TAS1R1 plays a role as an umami receptor. The mechanism of transcriptional regulation of this receptor has not been elucidated. In this study, we examined the function of *TAS1R1* promoter in the human primary fungiform taste cells.

The 5'-rapid amplification of cDNA ends (5'-RACE) analysis was performed to determine the transcription start sites (TSSs) of the *TAS1R1* gene. Sequencing of 18 clones identified six distinct sites for the initiation of *TAS1R1* transcripts, starting at positions 35, 37, 57, 61, 65, and 67 bp upstream of ATG in the first exon. Thirty-seven bp upstream of ATG was the major TSS, represented in the 6 clones. The initiator and the downstream promoter element lay around this TSS. Luciferase reporter assays showed that a 201-bp region upstream of the ATG start codon of *TAS1R1* had a promoter activity. GT box is the recurring motif of Sp/KLF family members in promoters. The GT box in the *TAS1R1* promoter was conserved in the many mammalian species. Site-directed mutagenesis of GT box in *TAS1R1* promoter significantly reduced promoter transactivation. These results show that the GT box in the *TAS1R1* promoter plays a role in the transcriptional activation of *TAS1R1* promoter.

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

3-P1-P80 カルシウムチャネルを介した *Porphyromonas gingivalis* ジンジパインによる COX-2 発現の分子機序

○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。我々はこれまでに宿主の単球系細胞株 THP-1 細胞に対する *Pg* の感染において、本菌が産生するジンジパインによる COX-2 発現には、細胞外から流入する細胞内カルシウム (Ca^{2+}) の濃度上昇が重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+} 供給の解析と Ca^{2+} チャネルの関与について報告する。細胞外 Ca^{2+} キレート剤である EGTA の使用は、ジンジパインによる COX2 発現を抑制することを以前に示した。そこでジンジパインによる COX-2 発現に関わる ERK/AP-1 と IKK/NF- κ B の 2 経路に及ぼす EGTA の効果を調べた。ERK/AP-1 と IKK/NF- κ B の解析は特異的抗体を用いた Western blotting 法により評価した。その結果、*Pg* の感染による ERK/AP-1 と IKK/NF- κ B の活性化は、EGTA 未処理と比べて EGTA 処理によって抑制された。この抑制は EGTA 処理による細胞外からの Ca^{2+} 流入の抑制によるものと考えられた。さらに Ca^{2+} チャネル阻害剤 SKF-96365 を用いてジンジパインによる COX-2 発現への影響について検討した。THP-1 細胞を SKF-96365 で前処理し、*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 細胞における *Pg* 感染による COX-2 発現は SKF-96365 処理により濃度依存的に減少した。以上のことから、ジンジパインによる COX-2 発現誘導には細胞外の Ca^{2+} 流入が重要であり、その流入には細胞膜上のカルシウムチャネルの関与が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

The molecular mechanism of *Porphyromonas gingivalis* gingipains-induced COX-2 expression via the calcium channels

○Nakayama M^{1,2}, Naito M³, Nakayama K³, Ohara N^{1,2}

¹Dept Oral Microbiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ²ARCOCS Okayama Univ Dent Sch, ³Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

Porphyromonas gingivalis (*Pg*) is an oral bacterium deeply involved in chronic periodontitis that has COX-2 expression and PGE2 production. We have showed 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. In this study, we examined the mechanisms by which gingipains-induced COX2 expression required Ca^{2+} influx and Ca^{2+} channels on the plasma membrane. Previously, we indicated treatment of EGTA, which is extracellular Ca^{2+} chelator, decreased the expression of COX-2 in *Pg*-infected THP-1 cells. Thus, we investigated the effect of EGTA and Ca^{2+} channel inhibitor SKF-96365 on the two pathways of ERK/AP-1 and IKK/NF- κ B and gingipains-induced COX-2 expression. The results showed that EGTA treatment inhibited the activation of ERK/AP-1 and IKK/NF- κ B in *Pg*-infected THP-1 cells. It is suggested that the suppression of Ca^{2+} influx by EGTA treatment inhibited the activation of these pathways and gingipains-induced COX-2 expression. Furthermore, we tested the effect of SKF-96365 on gingipains-induced COX-2 expression. We found that SKF-96365 treatment inhibited COX-2 expression in *Pg*-infected THP-1 cells. Collectively, it was considered that calcium channels on the cell membrane are involved in Ca^{2+} influx on gingipains-induced COX-2 expression.

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

3-P1-P81 内耳前庭刺激を介する誤嚥性肺炎の予防・軽減効果

○安部 力

岐阜大 院医 生理

誤嚥性肺炎は、現在の死亡者数約4万人が2030年には約13万人と約3倍に増加すると予想されており、その対策は喫緊の課題となっている。高齢者では年齢・体力的要素や疾患の背景があるため、誤嚥性肺炎を発症してからの治療は難しい。さらに、複数の薬を服用している可能性も考えられる。このため、「薬に頼らない」予防対策を講じる必要がある。「薬に頼らない」予防手法のひとつとして、自律神経の活性化による免疫系の賦活化がある。我々はこれまで、炎症が起きる前に電気や光でマウスの迷走神経を刺激すると、その後生じる炎症が抑えられることを明らかにしてきた。この経路では、自律神経の中核である延髄C1ニューロンへの刺激が交感神経を介して脾臓免疫細胞を活性化していることがわかった。さらに、我々は、内耳前庭器刺激により延髄C1ニューロンおよび交感神経を活性化できることを明らかにしてきた。すでに、ヒトでの経皮的内耳前庭器電気刺激手法を確立していることから、この系を明らかにすることで、新しい誤嚥性肺炎の予防手法が期待される。そこで本研究では、マウスを用いて、内耳前庭器への刺激による延髄C1ニューロンを介した誤嚥性肺炎の予防および重症化軽減効果を調べた。誤嚥性肺炎は、気管内挿管によるLPS投与により引き起こした。オプトジェネティクスを用いて延髄C1ニューロンを特異的に活性化すると、気管内洗浄液(BAL)中のTNF- α 値は有意に抑えられた。また、組織学的に、内耳前庭器から前庭神経核を介した延髄C1ニューロンへの投射がわかった。さらに、内耳前庭器への重力刺激にてBALのTNF- α 値は有意に抑えられ、この効果は前庭器破壊により消失した。これらの結果から、内耳前庭器への刺激は延髄C1ニューロンを介して誤嚥性肺炎を予防・軽減できることが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Protection of aspiration pneumonia via the peripheral vestibular stimulation

○Abe C

Dept Physiol, Gifu Univ Grad Sch Med

Sufficient medical treatment is difficult to apply for elderly people after the onset of aspiration pneumonia. Thus, the development of preventive method is required. One of the preventive methods is activation of neuro-immune system. Previously, we showed that electrical stimulation of the vagal afferents can reduce subsequent inflammation. In this pathway, stimulation of C1 neurons in medulla oblongata, which are the center of the autonomic nerves system, activates spleen immune cells via the splenic sympathetic nerves. Furthermore, we showed that peripheral vestibular stimulation activated sympathetic nerves system via C1 neurons. Since we have established a method of percutaneous vestibular electrical stimulation in humans, a novel preventive method of aspiration pneumonia will be developed by clarifying the activation of neuro-immune system via the peripheral vestibular stimulation. In this study, we examined whether the peripheral vestibular stimulation shows protective effects for aspiration pneumonia via C1 neurons. Specific activation of C1 neurons using optogenetics significantly suppressed TNF- α levels in bronchoalveolar lavage (BAL). Furthermore, the TNF- α value in BAL was significantly suppressed by peripheral vestibular stimulation induced by gravitational challenge, and this effect was disappeared by vestibular lesion. These results suggest that peripheral vestibular stimulation can prevent aspiration pneumonia via C1 neurons.

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

3-P1-P82 *P. gingivalis* LPS が誘導する糖尿病性腎症モデルマウス腎における SGLT2 の過剰発現についての研究

○梶原弘一郎¹, 沢 禎彦²

¹福歯大 矯正, ²岡大 院医歯薬 口腔機能解剖

重度歯周疾患のある糖尿病患者が腎症を合併する危険性の高いことは喫緊の問題である。近年、糖尿病患者の腎臓におけるナトリウム-グルコース共輸送体 (SGLT2) の過剰発現が報告されている。以前、我々は糖尿病マウスの腎糸球体内皮細胞において Toll 様受容体 TLR2 および TLR4 を発現することを報告した。本研究は、糖尿病マウス腎における TLR2/4 リガンドである *P. gingivalis* LPS (Pg-LPS) による SGLT2 の発現を調べることを目的としている。免疫組織化学的研究および組織リアルタイム PCR、ストレプトゾトシン (STZ) 誘発性糖尿病 ICR マウス (STZ-ICR), Pg-LPS を投与された健常な ICR マウス (LPS-ICR), および Pg-LPS 誘発性腎症を伴う糖尿病 ICR マウス (LPS-STZ) において行われた。血糖値の定量分析では、600 mg/dl に達するまでの平均時間は、LPS-STZ の方が STZ-ICR 腎よりも短かった。さらに、血糖値の上昇は、LPS-STZ の方が STZ-ICR 腎よりも有意に急であった。これらのデータより、LPS-STZ モデルは顕著な耐糖能異常を示唆している。SGLT2 の発現は、LPS-ICR または STZ-ICR よりも LPS-STZ の腎実質全体で有意に強かった。SGLT2 の発現は、尿細管と尿細管周囲の両方、および LPS-STZ 腎の糸球体で観察された。組織リアルタイム PCR および細胞 ELISA による分析では、SGLT2 遺伝子およびタンパク質の発現は、LPS-ICR または STZ-ICR よりも LPS-STZ で有意に強かった。LPS-ICR 腎と STZ-ICR 腎における SGLT2 の産生に違いは認めなかった。腎 SGLT2 の異常発現が糖尿病または、*P. gingivalis* LPS 単独では誘発されないことが示唆された。本研究は、歯周炎が糖尿病性腎症の独立危険因子であるばかりでなく、糖尿病の増悪因子である可能性を示唆していると考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Study on overexpression of SGLT2 in the kidney of a *P. gingivalis* LPS-induced diabetic nephropathy mouse model

○Kajiwara K¹, Sawa Y²

¹Div Orthodont, Fukuoka Dent Coll, ²Dept Oral Funct Anat, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

It has also been established that the diabetic glomerular endothelium expresses the toll-like receptors TLR2 and TLR4. The present study aims to examine the renal SGLT2 induction by the TLR2/4 ligand *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide (Pg-LPS) in mouse diabetic nephropathy. Immunohistochemical study and tissue RT-PCR analyses were performed on mouse kidneys in streptozotocin (STZ)-induced diabetic ICR mice (STZ-ICR), in healthy ICR mice administered Pg-LPS (LPS-ICR), and in diabetic ICR mouse kidneys with Pg-LPS-induced nephropathy (LPS-STZ). The expression of SGLT2 was significantly stronger in the whole of the renal parenchyma of the LPS-STZ than in the LPS-ICR or in the STZ-ICR. The expression of SGLT2 was observed both in the renal tubules and around the renal tubules, and in the glomeruli of the LPS-STZ kidneys. In the analysis by tissue real-time PCR and cell ELISA, the expression of the SGLT2 gene and protein was significantly stronger in the LPS-STZ than in the LPS-ICR or in the STZ-ICR. There were no differences in the renal SGLT2 production in the LPS-ICR and the STZ-ICR kidneys. Abnormally high renal expression of SGLT2 occurs in diabetic kidneys with *P. gingivalis* LPS. Periodontitis may be an exacerbating factor in diabetic nephropathy as well as in diabetes. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

3-P1-P83 口内炎に関する基礎研究～ラット舌への炎症誘発～

○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】口内炎は重度のものでは罹患者 QOL を著しく低下させる疾患である。好発部位は舌, 口唇, 歯肉, 頬粘膜であり, 紅暈を有する円形から卵円形の小潰瘍で, 表面に白色ないし黄色の偽膜を形成する。接触痛や刺激痛を伴い, 罹患者に自覚的苦痛をもたらす。痛みのあまり食事不能となり摂取量の減少を引き起こし, コミュニケーション機能を低下させる原因にもなる。本疾患に関し臨床症状や病理組織像の報告は存在するが, 原因は未だ不明であり, 治療も対症療法のみである。また動物実験も確立されていない。本研究では, 口内炎ラットモデルの開発を試みた。

【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 3 秒間軽く接触させ, 口内炎様症状を誘発した (実験群)。その後, 舌の規格化写真およびヘマトキシリン・エオジン染色標本で病変部を経時的に観察した。対照には無処置ラットを用いた (対照群)。さらに, 処置後 7 時間および 3 日後には舌組織からタンパク質を抽出し炎症性因子に関しウエスタンブロット解析を行った。

【結果】処置後 1, 7 時間の病変部において水泡形成および上皮剥離を伴う潰瘍形成が認められ, 3, 5, 7 日では明らかな真皮への炎症性細胞浸潤が見られた。9 日では上皮の修復が開始し, 16, 21 日において上皮・結合組織が再生していた。また, 処置後 7 時間および 3 日後に IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α のタンパク発現を認めた。

【結論】本研究でおこなった手法は今後, 口内炎の研究に役立つと考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Basic study for establishment of stomatitis animal model

○Takeuchi R¹, Matsumoto H², Hiratsuka K¹

¹Dept Biochem Mol Biol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ²Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

Introduction: Stomatitis causes the lowering QOL by the eating disorder and the sleep disturbance with a pain. Though several animal models have been developed to elucidate the pathogenesis of stomatitis, these could not represent the characteristics of this disease appropriately. Thus, in this study, the basic study was carried out to establish the stomatitis animal model.

Methods: Sixteen-week-old male Wistar rats were used in all experiments. The inflammation was induced on rat tongue by the 100°C chrome molybdenum wrench (ϕ 3 mm) with very low pressure for 3 sec under the anesthesia. The inflammation area was taken photos and the tissue samples of its area were collected for the hematoxylin and eosin staining at the following periods after the induction.

Results and Discussion: On Hour 1, 7 and Day 1, it was found the blister formation and the ulceration with epithelium separation. On Day 3, 5, and 7, a significant infiltration of inflammatory cells into the dermis was found. On Day 9, the regeneration of epithelium had been started, and on Day 16 and 21, the repair of the epithelium and the connective tissue was revealed.

Conclusion: This study may be applied for establishment of new stomatitis animal model.

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

3-P1-P84 脂肪組織炎症で CCL19-CCR7 経路が制御する microRNA の同定

○佐野 朋美¹, Elsheikh Malaz¹, 溝上 顕子², 兼松 隆¹

¹九大 院歯 口腔機能分子, ²九大 院歯 OBT 研究セ

【目的】 歯周炎による軽微な慢性炎症は、脂肪組織において脂肪細胞-マクロファージの相互作用で増幅され、インスリン抵抗性 (IR) を惹起する。我々は、LPS 刺激下でマクロファージと共培養した脂肪細胞において CCL19 が高発現することを見出し、その受容体の CCR7 欠損 (KO) マウスでは、高脂肪食誘導性肥満と IR が抑制されたことから、脂肪組織の炎症に CCL19-CCR7 経路が重要であることを報告した。さて、miRNA は、標的遺伝子の発現を抑え炎症反応を調節することが知られている。本研究では、CCL19-CCR7 経路によって制御される miRNA に着目し、肥満誘導性炎症を調節する miRNA (治療標的) を探索した。**【材料と方法】** 野生型 (WT) および *Ccr7*-KO マウスに通常食 (ND) または高脂肪食 (HFD) を 8 週間与え、脂肪組織を採取した。miRNA アレイ解析を行い、その結果を qPCR で検証した。着目した miRNA について、LPS 刺激下でマクロファージと共培養した脂肪細胞での発現解析を行った。また、LPS 刺激マクロファージ、TNF- α 刺激脂肪細胞についても解析した。**【結果】** WT/ND と比較し WT/HFD で発現が低下し、WT/HFD と比較し *Ccr7*-KO/HFD で亢進する miRNA として miR-X を同定した。LPS 刺激下でマクロファージと共培養した脂肪細胞や TNF- α 刺激脂肪細胞では、それぞれ未刺激群と比較して有意に miR-X の発現は抑制された。一方、LPS 刺激マクロファージでは、炎症反応は亢進したものの miR-X 発現は変動しなかった。**【結論】** 脂肪組織で炎症反応を調節している miR-X を同定し、この発現調節には、炎症組織中のマクロファージが産生する TNF- α が関与していることが示された。miR-X は、炎症の制御に重要であり、歯周炎等の合併症として起こる肥満制御の治療標的となる可能性がある。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Identification of microRNA regulated by CCL19-CCR7 signaling in adipose tissue inflammation

○Sano T¹, Elsheikh M¹, Mizokami A², Kanematsu T¹

¹Sect Aging Sci Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Purpose; Periodontitis, a minor chronic inflammation, causes insulin resistance (IR). We previously reported *Ccr7* gene-deficient (KO) mice were protected from diet-induced obesity and IR. miRNAs are key regulators for inflammatory responses. The aim of this study is to detect differentially expressed miRNA in high-fat diet (HFD)-fed *Ccr7*-KO mice to find potential therapeutic targets regulating inflammation. Materials and Methods; Wild-type and *Ccr7*-KO mice were fed either normal-diet or HFD for 8 weeks. miRNAs in adipose tissues were compared by microarray and qPCR. Macrophages and adipocytes were cultured under LPS or TNF- α stimulation and quantified miRNA expression. Result; We focused on a microRNA (miR-X) profile from the results of microarray and qPCR analyses. The miR-X was significantly suppressed in LPS-stimulated adipocytes co-cultured with macrophages and TNF- α -stimulated pre-adipocytes or adipocytes, compared with those unstimulated groups. Conclusion; miR-X is involved in the obesity-induced inflammatory response in adipose tissue, and the miR-X expression is regulated by TNF- α produced by macrophages in inflamed tissues. miR-X is important for the control of inflammation and will be a therapeutic target for complications such as periodontitis.

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

3-P1-P85 グルコースの味覚がヒトの咀嚼と唾液アミラーゼ活性に与える影響

○安松 啓子

東歯大 短大

主食である炭水化物の口腔内消化には、咀嚼と唾液アミラーゼの分泌が必要であるため、炭水化物の味覚が唾液アミラーゼ分泌や咀嚼に何らかの影響を与えると思われるが、現在のところこの3項目を取り扱った研究は見当たらない。そこで本研究では、20代女性10名を対象に、白米の咀嚼時及び、甘味（80%ショ糖）、酸味（8%酒石酸）、苦味（0.5%塩酸キニーネ）、そしてグルコース（0.5 M glucose + 10 mM NaCl）それぞれを5滴加えたパラフィルムの咀嚼時において、咀嚼回数、唾液量、舌下部アミラーゼ活性を測定し、それらの相関関係を解析した。その結果、白米咀嚼時のアミラーゼ活性は咀嚼開始から30秒後にピークに達し、1分後に減少した。パラフィルム咀嚼時では、無味のコントロールと比べ、グルコース味の場合のみでアミラーゼ活性が有意に増加した。20秒間の咀嚼頻度に関してグルコース味は、コントロール（ $P < 0.01$ ）および苦味（ $P < 0.05$ ）と比べ有意に多かった。甘味とグルコース刺激時には唾液量とアミラーゼ分泌速度に有意な正の相関が見られたが、他の味では相関がみられなかった。興味深いことに、アミラーゼ活性と咀嚼回数の間には、甘味刺激時には正の相関、グルコース味刺激時には有意な負の相関となった。さらにグルコース味覚強度と白米嚥下までの咀嚼持続時間に負の相関が見られたが、甘味に関しては見られなかった。以上の結果より、グルコースの味覚はショ糖の味覚と異なる影響を咀嚼とアミラーゼ分泌に与えており、グルコース特異的味覚情報の関与が示唆された。共同研究者：高雄あゆみ（東京歯科大学短期大学専攻科）

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effect of glucose taste on mastication and salivary amylase activity in humans

○Yasumatsu K

Tokyo Dent Junior Coll

The effect of taste on mastication and salivary amylase activity during a carbohydrate ingestion remain to be elucidated. In the present study, we examined chewing frequencies, amounts of whole saliva, amylase activities during chewing a rice ball or laboratory films with taste solutions (80% sucrose, 8% tartaric acid, 0.5% quinine-HCl or 0.5 M glucose + 10 mM NaCl) in 10 healthy women. As the results, among four taste stimuli during chewing, only glucose + NaCl significantly increased amylase activity when compared with tasteless film (control). The chewing frequency of the film with glucose + NaCl was significantly higher than control or the film with quinine-HCl. The rate of salivary amylase secretion showed a significant positive correlation with saliva secretion when sucrose or glucose + NaCl existed in chewing films. Interestingly, chewing frequency and amylase activity showed significant negative correlation when glucose + NaCl existed in the chewing films. Conversely, they showed a tendency of positive correlation when sucrose existed. Furthermore, perceived intensity of glucose + NaCl negatively correlated with chewing duration of a rice ball until swallowing. These results suggest that glucose specific taste affects mastication and salivary amylase secretion.

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

3-P1-P86 p130Cas はマウス顎下腺の顆粒性導管の発達に関与する

○李 傲男¹, 高 靖¹, 藤井 慎介², 清島 保², 自見英治郎^{1,3}

¹九大 院歯 口腔細胞工, ²九大 院歯 口腔病理, ³九大 院歯 OBT 研究セ

p130Cas is involved in the development of granular convoluted tubule of submandibular gland in mice

○Li AN¹, Gao J¹, Fujii S², Kiyoshima T², Jimi E^{1,3}

¹Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

The salivary glands of rodents are not fully developed at birth, and cell differentiation involved in its function occurs after birth. p130Cas (Crk-associated substrate protein) is an adapter protein that forms a complex with various proteins in cells by growth factors and integrin signals. We have previously reported that p130Cas is not involved in osteoclast formation, but is essential for the formation of ruffled border involved in the secretion of acids and proteolytic enzyme. Since we found that p130Cas was expressed in ductal epithelial cells including the granular duct of the submandibular gland by immunohistochemical technique, we considered that it may play an important role in salivary secretion. In this study, we generated epithelial tissue-specific p130Cas-deficient (p130Cas cKO) mice using Keratin14-Cre mice and investigated the physiological role of p130Cas in salivary gland development. The submandibular glands of 5-week-old wild-type (WT) and p130Cas cKO mice were prepared, and their size and weight were measured. Mice were anesthetized and stimulated with pilocarpine and then saliva was collected to measure the saliva secretion and to analyze saliva components. For histological analysis, salivary glands were fixed and then stained with H&E or with antibodies against p130Cas, E-cadherin, and GM130. To label proliferating cells, EdU was intraperitoneally injected to 5-week-old WT and p130Cas cKO mice. After 8 hours, salivary glands were fixed and detected with click-iT plus kit. The size and weight of submandibular glands of p130Cas cKO mice were lower than those of WT mice. The saliva secretion and the amount of amylase in saliva were decreased in p130Cas cKO. Histological analysis showed immature development of the granular convoluted tubule of the submandibular glands in p130Cas cKO mice. Furthermore, it was revealed that the secretory granules contained in the granular convoluted ductal epithelial cells were significantly reduced in the p130Cas cKO mice. Deficiency of p130Cas caused the cytoplasm localization of E-cadherin which should be expressed on the cell membrane of granular convoluted ductal epithelial cells and disturbed the intracellular localization of the cis-Golgi matrix protein GM130. The incorporation of EdU into submandibular gland was decreased in p130Cas cKO mice compared to WT mice. Thus, p130Cas plays an important role in the normal development of the granular convoluted tubule of salivary gland and in the saliva secretion.

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

3-P1-P87 耳下腺腺房細胞における HaloTag 融合分泌タンパク質の選別輸送効率の測定

○吉垣 純子, 横山 愛, 加藤 治

日大松戸歯 生理

【目的】唾液腺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。分泌タンパク質は、ゴルジ装置において選別され2つの経路に振り分けられていると予想される。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ため、合成してから時間が経過したタンパク質と合成直後のタンパク質を異なる蛍光色素でラベルすることができる。本研究では、唾液タンパク質であるシスタチン D (Cst5) および Parotid secretory protein (Psp)、血漿タンパク質としてエリスロポエチン (Epo) の HaloTag 融合タンパク質を作成し解析を行った。【方法】耳下腺初代培養細胞に遺伝子導入し、44 時間後に細胞を TMR リガンドでラベルした。余分のリガンドを除去後、0-8 時間培養し、培地および細胞を回収した。回収後、培地および細胞を AlexaFluor 660 リガンドでラベルし、電気泳動後、2つのリガンドの蛍光強度を測定した。【結果】AlexaFluor 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、Psp, Cst5, Epo の順に細胞内貯留量が高く、新規に合成されたタンパク質が分泌顆粒内に効率よく貯蔵されていることが予想された。【考察】Psp は内在性唾液タンパク質の中でも、特に構成性経路での分泌量が少ないこと、また、Epo は *in vivo* 実験において、血漿側、すなわち構成性に分泌されることが報告されている。したがって、HaloTag 融合タンパク質を利用した今回の計測が、*vivo* における選別輸送効率を反映していると考えられる。【利益相反】利益相反状態にはありません。

Selective transport efficiency of HaloTag-fused secretory proteins in parotid acinar cells

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

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

Salivary cells have two pathways for protein secretion: the regulated and constitutive pathways. We analyzed the selective transport mechanism by using HaloTag system. Since the HaloTag protein is labeled by a membrane-permeable fluorescent dye, preexisting and newly-synthesized proteins can be recognized by sequential labeling with different dyes. In this study, we constructed the HaloTag-fused proteins with two saliva proteins, cystatin D (Cst5), parotid secretory protein (Psp), and a plasma protein erythropoietin (Epo) for measurement of the selective transport efficiency. At 48h after transfection of the three proteins to the primary culture of parotid acinar cells, the cells were labeled with the TMR HaloTag ligand. After washout of unbound ligands, cells were cultured up to 8 h. The medium and cell lysates were recovered and labeled with the Alexa Fluor 660 ligand to measure the amounts of newly synthesized proteins that were secreted and stored in the cells. The ratio of the Alexa Fluor 660-labeled proteins in the cells to the medium was calculated. As a result, the ratio of Psp was largest, followed in order by Cst5 and Epo, suggesting that Psp was efficiently transported and stored in secretory granules.

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

3-P1-P88 グラミシジン穿孔パッチクランプ解析により表出される顎下腺腺房細胞 Cl⁻分泌の維持に関する SGLT1 活性

○杉田 誠

広大院医 口腔生理

顎下腺腺房細胞では副交感神経作動薬の carbachol 刺激により、細胞内 Ca²⁺濃度が上昇し、基底側方膜の Na⁺-K⁺-2Cl⁻共輸送体(NKCC)を介して細胞内に輸送された Cl⁻が Ca²⁺依存性 Cl⁻チャネル(TMEM16A)を介して腺腔側へ分泌され、水分分泌を駆動する。これまでの研究で、細胞外グルコース濃度を減少させた際、および phlorizin 投与により Na⁺-グルコース共輸送体 SGLT1 を介するグルコース取り込みを阻害した際に、顎下腺からの水分分泌は抑制されることが明らかとなったが、その分子・細胞レベルでの機構は不明である。本研究では分離腺房細胞でのグラミシジン穿孔パッチクランプ解析とホールセルパッチクランプ解析の比較、および顎下腺灌流標本での唾液分泌速度測定を用い、SGLT1 活性が carbachol 刺激により誘発される Cl⁻分泌・水分分泌の維持にいかに関与するかを探究した。ホールセルパッチクランプで記録される Cl⁻電流は TMEM16A の活性化状態を表出するのに比較し、グラミシジン穿孔パッチクランプで記録される Cl⁻電流は NKCC を介して細胞内に輸送された Cl⁻が TMEM16A を介し分泌される量を表出する。分離腺房細胞でのグラミシジン穿孔パッチクランプとホールセルパッチクランプの双方の記録において、carbachol 刺激は振動性 Cl⁻電流を誘発した。Carbachol により誘発される振動性 Cl⁻電流に対する phlorizin 投与の効果のグラミシジン穿孔パッチクランプとホールセルパッチクランプでの比較により、SGLT1 阻害は TMEM16A 活性を部分的に抑制することに加え、NKCC を介する Cl⁻流入に依存した Cl⁻輸送に影響を与え、振動性 Cl⁻分泌を抑制することが示唆された。SGLT1 活性は振動性 Cl⁻分泌と水分分泌を維持するためにリアルタイムで必要とされる。共同研究者：竹安美彩（広大院医・口腔生理）

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Gramicidin-perforated patch recording reveals the involvement of SGLT1 activities in maintaining Cl⁻ secretion from submandibular acinar cells

○Sugita M

Dept Physiol Oral Physiol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci

The cholinergic agonist carbachol stimulates fluid secretion from submandibular acinar cells while inducing an increase in [Ca²⁺]_i to open apically-located Ca²⁺-activated Cl⁻ channels (TMEM16A). Cl⁻ enters the cytoplasm via a Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter (NKCC) to maintain the apical exit of Cl⁻ through TMEM16A, which acts as a driving force for fluid secretion. Previous studies indicated that lowering the extracellular glucose concentration and inhibiting glucose entry via a sodium-glucose cotransporter 1 (SGLT1) by phlorizin decreased the carbachol-induced fluid secretion although their molecular or cellular mechanisms remain unknown. Here we combined an ex vivo submandibular gland perfusion technique with conventional whole-cell and gramicidin-perforated patch recordings from isolated acinar cells to clarify how the SGLT1 activity is involved in maintaining the carbachol-induced fluid secretion. Carbachol induced oscillatory Cl⁻ currents under both the whole-cell and gramicidin-perforated patch configurations. Comparison of the effects of phlorizin on carbachol-induced Cl⁻ currents recorded in the two configurations revealed that the SGLT1 inhibition suppressed carbachol-induced Cl⁻ secretion by altering the NKCC-mediated Cl⁻ entry in addition to affecting TMEM16A activity. Our results suggest that the SGLT1 activity is necessary for maintaining the oscillatory Cl⁻ secretion in realtime to drive fluid secretion.

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

3-P1-P89 老化促進マウスの耳下腺における脂肪酸輸送体 CD36 発現変化と唾液分泌への影響

○佐藤慶太郎¹, 大野 雄太², 長瀬 春奈², 柏俣 正典², 安達 一典¹

¹明海大 歯 薬理, ²朝日大 歯 薬理

【目的】漿液性唾液は主に耳下腺から、粘液性唾液は他の唾液腺から分泌される。相対的に漿液性唾液の分泌量が減少するとドライマウスになる。ドライマウスに悩む患者には中高齢者が多く、加齢現象は漿液性唾液の分泌量減少を引き起こす要因の一つと考えられる。しかし、耳下腺の加齢変化がどう影響するか明らかではない。一方、ヒトやラットを用いた唾液成分解析において、総脂肪酸量は耳下腺由来の唾液が顎下腺および舌下腺由来の唾液よりも多い報告がある。耳下腺に取り込まれた脂肪酸は、エネルギー代謝などを介して唾液分泌に影響すると考えられる。そこで我々は、脂肪酸輸送体の発現量は耳下腺が顎下腺や舌下腺に比べて多く、加齢による発現量の変化が唾液分泌に関与すると考え検討を行った。【方法】8週齢の雄性 BALB/c マウスの耳下腺、顎下腺および舌下腺を用いて、脂肪酸輸送体 CD36 の mRNA 量を real-time RT-PCR により検討した。48週齢の雄性老化促進マウス (SAMP1 マウス) とその対照マウス (SAMR1 マウス) を用いて、三種混合麻酔下におけるムスカリン受容体作動薬ピロカルピンの腹腔内投与 (0.5 mg/kg 体重) による唾液分泌量を測定した。SAMP1 および SAMR1 マウスの耳下腺における CD36 タンパク質量をウェスタンブロッティングにより検討した。【結果と考察】BALB/c マウスにおいて、CD36 の mRNA 量は耳下腺が最も多かった。ピロカルピン投与後 20 分間の唾液分泌量は SAMP1 マウスが SAMR1 マウスに比べて有意に低かった。耳下腺における CD36 タンパク質量も SAMP1 マウスが SAMR1 マウスに比べて有意に低かった。よって、耳下腺は他の唾液腺に比べて CD36 による脂肪酸の取り込み量が多く、48週齢の SAMP1 マウス耳下腺では、CD36 の発現量が変化することにより、唾液分泌に関わる可能性が考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Involvement of alteration of CD36 expression on salivary secretion in senescence-accelerated mouse parotid gland

○Sato K¹, Ohno Y², Nagase H², Kashimata M², Adachi K¹

¹Div Pharmacol Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent, ²Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent

Dry mouth is observed commonly in middle-aged and elderly patients. Although the deterioration of parotid gland (PG) function in those patients is considered, the relationship between aging and hyposalivation has been unclear. We hypothesized that the reduction in expression of fatty acid translocase FAT/CD36, which facilitates the transport of fatty acids, induced dry mouth through the hyposalivation in PG. In this study, the level of CD36 expression was detected by real-time RT-PCR in male 8-weeks BALB/c mice. Also, the involvement of PG CD36 in the salivary secretion of senescence-accelerated mouse (SAM) was investigated. The RNA expression level of CD36 in PG was superior to other salivary glands in BALB/c mice. Compared with 48-weeks SAM resistant 1 (SAMR1), the pilocarpine-induced salivation in age-matched SAM prone 1 (SAMP1) was significantly decreased. In addition, the CD36 protein expression in PG was investigated by western blotting, and the expression of CD36 of SAMP1 was significantly lower than that of SAMR1. These results suggest that, in 48-weeks SAMP1, the CD36 plays a crucial role in the aging-induced hyposalivation of PG.

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

3-P1-P90 傷害された唾液腺が発現する BMP2 の役割

○横山 愛, 加藤 治, 吉垣 純子

日大松戸歯 生理

BMP2 (骨形成タンパク質 2) は骨組織や軟骨の分化を誘導することで知られている。膵臓の導管結紮を行うと BMP2 の発現量が増加することが報告されている。外分泌腺としての膵臓の構造は耳下腺と類似の組織構造を示す。本研究では、耳下腺における導管結紮においても同様の現象が観察できることを予測し、BMP2 の発現を検索するとともに BMP2 の役割について検討した。マウス片側耳下腺排泄導管をマイクロクリップにて7日間の結紮による傷害を与えた耳下腺を用いて、リアルタイム PCR で BMP2 の発現量の検討および Ki67 抗体による免疫組織化学染色を行った。コントロールは偽手術の耳下腺とした。BMP2 の遺伝子発現量および Ki67 陽性細胞率は、ともに導管結紮を行った耳下腺で有意に増加していた。続いて、BMP2 の役割を検討するためにマウス耳下腺を摘出後、コラゲナーゼ、ヒアルロニダーゼ処理により耳下腺初代培養細胞を作製した。初代培養細胞に BMP2 (100 ng/ml) を作用させ、48 時間培養し細胞増殖能を検討した。BMP2 を添加した初代培養細胞では、BMP2 非添加の初代培養細胞と比較して有意に細胞増殖能が増加した。また、初代培養細胞が上皮系の機能を保っていることを確認するために E-cadherin および Vimentin の発現量をウェスタンブロット法で確認したところ、E-cadherin の発現が維持されていた。Vimentin は検出されなかった。以上のことから、BMP2 は耳下腺においても傷害により発現量が増加し、その役割としては細胞増殖能を増加させることから唾液腺の再生・回復に関わっていることが推察される。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Role of BMP2 expressed by injured salivary gland

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

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

BMP2 is known to induce differentiation of bone tissue and cartilage. It has been reported that expression level of BMP2 increases after duct ligation of pancreas. The structures of pancreatic exocrine tissue and parotid gland are similar. In this study, we studied expression of BMP2 and the role in injured parotid glands. The expression of BMP2 was examined by real-time PCR and immunohistochemical staining with anti-Ki67 antibody in parotid gland after 7 days of unilateral duct ligation of the parotid gland in mice. Both the gene expression of BMP2 and Ki67-positive cells were significantly increased in injured glands. To investigate the role of BMP2, we prepared primary culture of parotid acinar cells. Cells were cultured in the presence of BMP2 for 48 hours to examine the cell proliferation ability. Compared to the control, the cell proliferation ability was significantly increased in BMP2 added cells. To confirm that the cells maintained their epithelial functions, the expression levels of E-cadherin and Vimentin were examined by Western blotting. E-cadherin expression was observed in cells. These results suggest that BMP2 is upregulated in the injured glands and has a role in regeneration and/or recovery of the salivary glands.

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

3-P1-P91 短鎖脂肪酸の経口摂取が唾液腺と唾液中 IgA レベルに与える影響

○山本 裕子¹, 猿田 樹理², 坂口和歌子³, 東 雅啓⁴, 槻木 恵一³

¹神歯大 短大 歯科衛生, ²神歯大 教育企画, ³神歯大 環境病理, ⁴神歯大 口腔解剖

【目的】我々はこれまでに動物実験で、難消化性糖類添加により盲腸で産生された短鎖脂肪酸 (SCFAs) 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。しかし SCFAs 単独の作用で唾液中 IgA 分泌速度を増加させるかどうかは明らかになっていない。本研究では SCFAs の経口摂取と摂取期間が唾液中 IgA 分泌速度に与える影響について明らかにすることを目的とした。【方法】SCFAs 摂取の有無と摂取期間を要因とした 2×4 の二元配置とした。5 週齢ラットを 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た無繊維飼料と塩化 Na 水溶液で 1 週間予備飼育後に、コントロール群には 21 mM 塩化 Na 水溶液を、SCFAs 群には酢酸 Na70 mM, プロピオン酸 Na30 mM, 酪酸 Na20 mM に調整した水溶液を自由摂取させた。Na 濃度は試験区間で同一に設定した。0 週, 1 週, 2 週, 4 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 分泌速度には、SCFAs 摂取の有無と SCFAs 摂取期間の交互作用が認められ ($p=0.0004$)、SCFAs 摂取群の 4 週の方がコントロール群の 4 週と比較して高値が認められた ($p<0.05$)。【考察】SCFAs を経口摂取することにより、摂取 4 週に唾液中 IgA 分泌速度が高くなる可能性が示された。難消化性糖類摂取では種々の要因が入るために明らかにできなかったが、SCFAs の作用で唾液中 IgA 分泌速度が上昇することが明らかとなった。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Oral intake of short-chain fatty acids on salivary glands and salivary IgA levels

○Yamamoto Y¹, Saruta J², Sakaguchi W³, To M⁴, Tsukinoki K³

¹Dept Junior Coll Kanagawa Dent Univ Sch Dent Hygiene, ²Dept Educ Plan, Kanagawa Dent Univ, ³Dept Env Pathol, Kanagawa Dent Univ, ⁴Dept Oral Anat, Kanagawa Dent Univ

We have previously shown that short-chain fatty acids (SCFAs) produced in the rat cecum by the addition of non-digestible carbohydrates may be involved in the increase in IgA flow rate of saliva. The purpose of this study was to clarify the effects of oral intake of SCFAs and duration of intake on IgA flow rate of saliva. Five-week-old rats were pretreated for 1 week on a fiber-free diet and sodium chloride solution, and then the control group received 21 mM sodium chloride solution and the SCFAs group received 70 mM sodium acetate, 30 mM sodium propionate, and 20 mM sodium butyrate solution. Cecal tissue, cecal digesta, serum, submandibular gland, and saliva were collected at 0, 1, 2, and 4 weeks. IgA concentrations in saliva, cecal digesta, and serum were measured by ELISA. There was an interaction effect of SCFAs intake and duration of SCFAs intake on salivary IgA secretion rate ($p=0.0004$), and the rate of salivary IgA secretion was higher in the 4-week period of the SCFAs intake group compared to the 4-week period of the control group ($p<0.05$). Oral intake of SCFAs may increase the salivary IgA flow rate during the 4-weeks intake period.

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

3-P1-P92 ラット耳下腺の顆粒形成・成熟と臓器アミラーゼ比活性の関係

○加藤 治, 横山 愛, 吉垣 純子

日大松戸歯 生理

【目的】これまで我々はラット耳下腺において分泌顆粒の成熟過程について検討してきた。ラット腹腔に β 受容体刺激薬であるイソプロテレノール(Isp)を投与し、5時間後に生成される分泌顆粒を未成熟顆粒として分離したが、顆粒形成後の変化が敏速に行われることが解明されてくると刺激時間だけで顆粒の成熟度を一定に保つことが困難であると考えられるようになった。そこでIsp刺激後の耳下腺アミラーゼ比活性を成熟度の指標の一つとするため、刺激時間と耳下腺臓器のアミラーゼ比活性、アミラーゼ比活性と顆粒精製量および唾液腺の形態観察との比較検討を行い、耳下腺分泌顆粒の成熟度の評価方法を再検討した。【方法】Ispはラット腹腔内に5 mg/kgで投与し、一定時間後に耳下腺を摘出した。耳下腺の一部は2%パラフォルムアルデヒド、2.5%グルタルアルデヒドで固定し、1 μ mの切片をトルイジンブルー染色後、分泌顆粒の観察を行った。残りの耳下腺ホモジネートよりアミラーゼ比活性を測定し、さらに分泌顆粒をパーコール遠心法にて分離精製した。【結果・結論】耳下腺のアミラーゼ比活性は注射2時間後、著しく低下し、5時間後から回復し始めた。しかしながら、刺激5時間後の臓器の比活性には個体間のバラツキが非常に大きかった。一方、耳下腺アミラーゼ比活性と顆粒形成量を示す顆粒精製時のタンパク質量には相関傾向が認められ、形態観察による顆粒形成量も比活性と同様の傾向を示した。今回の結果は刺激5時間付近の急激な分泌顆粒の合成と成熟を示しており、耳下腺アミラーゼ比活性が顆粒成熟過程を評価するための指標の一つになることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Relationship between maturation of secretory granule and relative activity of amylase in rat parotid glands

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

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

PURPOSE: We have examined maturation of secretory granules (SGs) in rat parotid glands. We supposed that formation of immature SGs was induced by injection of isoproterenol into rats at 5 hours after the injection. However, it is hard to separate immature SGs in a time-dependent manner because maturation process is a rapid event. To solve this problem, we measured amylase activity of parotid glands as an indicator of SG maturation. MATERIAL&METHODS: Isoproterenol (5 mg/kg) was injected into rat abdominal cavity. A part of parotid gland was fixed for observation by microscopy. After measurement of amylase activity in the remaining of tissue, SGs were purified using Percoll centrifugation. Amount of proteins in purified SGs was examined. RESULTS&CONCLUSION: Amylase activity reduced at 2 hours after the injection. And then it recovered from 5 hours after the injection as expected. However, there was the large standard deviation in amylase activity at that time. Amylase activity correlated with amount of proteins after purification of SGs. And observations of SG formations by microscopy seemed to correlate with amylase activity. These results suggest that measurement of amylase activity can estimate the degree of SG maturation.

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

3-P1-P93 液状飼料飼育が成長期ラット耳下腺内の神経組織発育に及ぼす影響について

○高橋 茂, 山本 恒之

北大 院歯 口腔機能解剖

【目的】これまで演者らは成長期ラットを液状飼料で飼育すると耳下腺の発育が阻害されることを報告してきた。今回さらに耳下腺内の神経組織の発育にどのような影響が及ぶのかについて免疫組織化学的に検討した。【方法】実験には Wistar 系雄性ラットを用いた。生後3週で離乳後、対照群の動物には通常の固形飼料、実験群には粉末飼料に水を加えて作製した液状飼料を0~8週間与えた。実験期間が終了した動物から耳下腺を摘出し、クリオスタットを用いて凍結切片を作製した。切片には末梢神経のマーカースとして抗 protein gene product 9.5 (PGP9.5) 抗体、交感神経のマーカースとして抗 tyrosine hydroxylase (TH) 抗体、副交感神経のマーカースとして抗 neuronal nitric oxide synthase (nNOS) 抗体を用いた免疫染色を行い、顕微鏡的に観察した。【結果と考察】離乳時(0週)においては腺小葉内の PGP9.5 と nNOS に対する反応は少なく、その多くは散在する点状の反応として観察された。一方、TH 陽性反応は腺房周囲に比較的多く認められた。対照群の耳下腺ではいずれの抗体に対しても陽性反応が経時的に増加し、4週以降では腺房周囲に線状として認められるものが多くなった。実験群では TH に対する反応は各期間とも対照群とほぼ同様であったが、PGP9.5 および nNOS に対する反応はいずれの期間においても対照群より少なく、特に nNOS においてその傾向は強く認められた。以上の結果より、成長期における液状飼料飼育は耳下腺内の交感神経の発育にはほとんど影響を及ぼさないが、副交感神経の発育には抑制的な影響を与えると考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effects of a liquid diet on growth of nerve in parotid glands of growing rats

○Takahashi S, Yamamoto T

Dept Oral Funct Anat, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

This study aimed to clarify how a liquid diet affected growth of nerve in parotid glands of growing rats. Male Wistar rats were weaned on day 21 after birth and fed a pellet diet for control group or a liquid diet for experimental group from 0 to 8 weeks. At several time points, the parotid glands were removed, and frozen sections were made with cryostat. The sections were immunohistochemically stained using anti-protein gene product 9.5 (PGP9.5) antibody, anti-tyrosine hydroxylase (TH) antibody, and neuronal nitric oxide synthase (nNOS) antibody as markers of general nerve, sympathetic nerve, and parasympathetic nerve, respectively. At 0 week, TH-positive reaction was often observed around acini although positive reactions to PGP9.5 and nNOS were sometimes identified in glandular tissue. In control glands, positive reactions to all antibodies gradually increased over time. In experimental glands, the reaction to anti-TH antibody was similar to that in the controls at each time point. However, PGP9.5- and nNOS-positive reactions were less than those in the controls. These findings suggest that liquid diet feeding inhibits growth of parasympathetic nerve but not sympathetic nerve in parotid glands in growing rats.

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

3-P1-P94 ピロカルピン刺激による遺伝子発現変化における β アレスチン系の関与

○森田 貴雄¹, 根津 顕弘², 山口 晴香¹, 佐藤 律子^{1,3}, 谷村 明彦²

¹日歯大新潟 生化, ²北医療大 歯 薬理, ³日歯大新潟短大 歯科衛生

【目的】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ラットの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】ヒト神経芽細胞腫由来細胞 (SH-SY5Y) またはヒト唾液腺由来細胞 (HSY) を、ピロカルピン (Pilo), セビメリン, アセチルコリン, カルバコール, ベタネコールなどのムスカリン受容体アゴニストで刺激し、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定量 PCR により各遺伝子の発現量変化を比較した。PCR プライマーの設計は Primer 3 ソフトウェアを用いて行った。【結果と考察】ラットへの Pilo (1 mg/kg) 投与により発現が変化した遺伝子を網羅的解析により同定した。このうち、いくつかの遺伝子の発現量変化を培養細胞 (SH-SY5Y および HSY) を用いて解析したところ、ラットと同様に Pilo 刺激による発現亢進が観察された。さらに、他のムスカリン受容体アゴニストによる刺激でも発現が亢進した。また、Pilo 刺激による遺伝子発現変化は β アレスチン阻害薬および MEK 阻害薬で抑制または亢進され、この変化は SH-SY5Y と HSY で異なっていた。これらのことから、Pilo 刺激による遺伝子発現変化には β アレスチン系や MAPK 系が関与することが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Involvement of β -arrestin signaling on gene expression induced by stimulation with pilocarpine

○Morita T¹, Nezu A², Yamaguchi H¹, Sato R^{1,3}, Tanimura A²

¹Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, ²Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ³Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ Coll at Niigata

Pilocarpine (Pilo), which is known to be secretagogue for xerostomia in patients with Sjögren's syndrome, causes the increases in saliva secretion through the activation of muscarinic receptor. Although Pilo causes 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 changes of gene expression using human neuroblastoma cells (SH-SY5Y) and human salivary gland-derived cells (HSY). The results of qRT-PCR analyses showed the expressions of some genes were up-regulated by the stimulation with not only Pilo but other muscarinic agonists compared to that of unstimulated control. In addition, Pilo-induced up-regulations of genes were influenced by inhibitor of β -arrestin signaling or MEK, and these influences were different from in SH-SY5Y and HSY. These results show the possibility that Pilo regulates gene expression through β -arrestin and/or MAPK signaling.

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

3-P1-P95 アセチルコリン刺激によって生じる顎下腺の Ca^{2+} と血流オシレーションとその調節機構

○根津 顕弘¹, 森田 貴雄², 石井 久淑³, 谷村 明彦¹

¹北医療大 歯 薬理, ²日歯大新潟 生化, ³北医療大 歯 生理

アセチルコリン (ACh) を持続的に静脈投与すると顎下腺に組織レベルで同調した Ca^{2+} オシレーションが観察される。本研究では、この Ca^{2+} オシレーションの調節機構を明らかにするため、超高感度蛍光 Ca^{2+} センサーを使った in vivo Ca^{2+} イメージングシステムと二次元レーザー血流計を用いた生体イメージングにより、ラット顎下腺の Ca^{2+} 応答と血流動態の解析を行った。ACh の持続投与により約 50~75 秒周期の Ca^{2+} オシレーションが惹起された。この Ca^{2+} オシレーションは自律神経節遮断薬では影響されなかったことから、その調節に自律神経系のフィードバックの関与は少ないことが示唆された。一方で、 Ca^{2+} オシレーションはカルシウム拮抗薬により完全に振動が抑制されて持続的な上昇へ変化したことから腺血流動態が関与する可能性が示唆された。そこで ACh による顎下腺の血流動態を可視化したところ、 Ca^{2+} と同様に約 50 秒周期で顎下腺血流が上昇と下降を繰り返す血流振動が観察された。ACh 投与による顎下腺の局所の血流変動は、上、中央、側面、下部のいずれの部位から発生する多様な変化パターンを示した。この血流振動のしくみを調べるため様々な遮断薬を用いたところ、アンジオテンシン II (Ang II) 受容体拮抗薬や Ang 変換酵素 (ACE) 阻害薬により、振動が抑制された。また、ACE 阻害下で抑制された血流振動が Ang II の持続投与によって回復したことから、血流振動の調節機構に Ang II による顎下腺の血管収縮が重要な役割を果たすことが明らかとなった。さらに Ca^{2+} 応答と血流動態の同時測定したところ、顎下腺の細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が血流増加に先立って発生することが明らかとなった。この結果は腺房細胞の Ca^{2+} 応答を介して顎下腺の血管の拡張が起こる可能性を示している。 Ca^{2+} 応答による顎下腺腺房細胞の酸素消費の影響や伝達物質の放出の可能性などについて現在解析中である。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Mechanism of acetylcholine-induced tissue-wide synchronization of Ca^{2+} and blood flow oscillations in rat submandibular gland

○Nezu A¹, Morita T², Ishii H³, Tanimuta A¹

¹Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ²Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, ³Div Physiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

Intravenous infusion of acetylcholine (ACh) cause Ca^{2+} oscillations synchronized at the tissue level in rat submandibular gland (SMG). To examine the mechanism of the synchronized Ca^{2+} oscillations in SMG, we monitored Ca^{2+} responses and blood flows (BFs) in live animals using the intravital Ca^{2+} imaging system and the laser speckle BF imager. Monitoring of BF dynamics demonstrated that ACh caused oscillatory changes in BF in SMG. The oscillatory changes in BF showed a diverse spacial patterns occurring from superior, central, lateral, and inferior regions of SMG. Preadministration of calcium antagonist, nifedipine, an angiotensin II (Ang II) receptor antagonist, irbesartan, or an Ang converting enzyme inhibitor, enalapril (Ena), changed the BF oscillations to a sustained increase in BF without fluctuation of BF. Infusion of Ang II after the treatment of Ena, which attenuate BF fluctuation, recovered BF oscillations. Our observations indicate the critical roles of vasoconstriction by Ang II in BF oscillations. Furthermore, simultaneous monitoring of Ca^{2+} and BF dynamics revealed that the increase in intracellular Ca^{2+} concentration preceded increase in BF. These results suggest that Ca^{2+} response of acinar cells reads vasodilation through the production of localized diffusible substances in the SMG.

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

3-P1-P96 アビジン-ビオチン結合を利用した低濃度センサータンパク質のバイオセンサー担体への固定化法の開発

○仙葉 慎吾, ジャハン アズメリー, 谷村 明彦

北医療大 歯 薬理

【目的】我々は、独自に開発したカルボキシル基を付加したシリカ製不織布 (COOH 不織布) を用いた新規なバイオセンサー担体を開発した。この不織布のカルボキシル基とセンサー分子のアミノ基を架橋することで、様々なバイオセンサーを作成できる。しかし、この架橋反応で十分な蛍光を得るためには $1\ \mu\text{M}$ 程度の濃度が必要であるため、蛍光タンパク質を使ったセンサーへの利用が困難であった。そこで本研究では、極めて高い親和性を持つアビジン-ビオチン結合を用いて、低濃度タンパク質を間接的に COOH 不織布に固定化する方法を開発した。【方法】異なる長さのリンカーとアミノ基を持つビオチンアミン (biotin-PEG₄-NH₂および biotin-PEG₁₁-NH₂) を、*N*-Hydroxysuccinimide と 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide で活性化した COOH 不織布に架橋した。これに蛍光標識したストレプトアビジン (F-SAv) を反応させ、その結合量を蛍光プレートリーダーで測定した。【結果】ビオチンアミンを架橋した不織布に対する F-SAv の結合量は、より長いリンカーを持つ biotin-PEG₁₁-NH₂の方が約 2 倍多かった。biotin-PEG₁₁-NH₂ を架橋した不織布に 10 nM の F-SAv を間接固定すると、直接架橋による 10 nM の F-SAv の 8 倍、 $1\ \mu\text{M}$ の F-SAv の 4 倍の結合が確認された。【考察】センサータンパク質をビオチン化、あるいはアビジンと融合させることによって、低濃度でも効率よく不織布に固定できることが示唆された。現在、この新規固定法を用いて蛍光センサータンパク質を不織布に固定したバイオセンサーを作成しており、これを用いた蛍光共鳴エネルギー移動を利用した生体物質検出法の開発を行なっている。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Development of immobilization method of low-concentration sensor protein on biosensor support using avidin-biotin bindings

○Semba S, Jahan A, Tanimura A

Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

We have developed a novel support for biosensors using the non-woven fabric consist of the carboxylic acid-modified silica fiber (NWF-COOH), which modification allows a covalent cross-linking of various fluorescent molecules containing amine group. However, this cross-linking reaction requires a concentration of above $1\ \mu\text{M}$ to obtain sufficient fluorescence, making it difficult to use fluorescent proteins for the development of sensors. In this study, we developed a method for indirectly immobilizing low-concentration proteins on COOH-NWF utilizing the avidin-biotin bindings. Biotin amines (biotin-PEG₄-NH₂ or biotin-PEG₁₁-NH₂) were cross-linked to NHS/EDC-activated COOH-NWF, and the binding of fluorescent-labeled streptavidin (F-SAv) to biotinylated-NWF was measured by using a fluorescent plate reader. Our results demonstrated that the fluorescence of bound F-SAv to the NWF was 2-times higher for NWF cross-linked with biotin-PEG₁₁-NH₂. In addition, as compared with the direct cross-linking of 10 nM F-SAv, the indirect immobilization of same concentration of F-SAv via biotin-PEG₁₁-NH₂ increased the amount of bound F-SAv to more than 8-fold. These results indicate that the low-concentration sensor protein can be efficiently immobilized on the COOH-NWF by using the avidin-biotin bindings. To detect various biomolecules, we are developing biosensors that a fluorescent-labeled sensor protein is immobilized on the NWF using this new immobilization method.

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

3-P1-P97 海生爬虫類モササウルス類化石を基にしたセメント質の起源の解析

○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 中央電顕, ³鶴大 歯 解剖 I

恐竜やモササウルス類を含めた主竜類 Archosaurs は歯槽が存在するとの報告がある (Bertin et al., 2018; Caldwell et al., 2003; Liu et al., 2016). 白亜紀後期に生息していた海生爬虫類モササウルス類は日本のみならず広く世界中から産出されている。近年モササウルス類の歯はセメント質を有し、槽生性結合であるとの報告がなされているが、セメント質に関する組織学的な詳細な研究は少ない。本研究の目的は、モササウルス類のセメント質の組織構造や顎骨との支持様式を解析することである。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, digital microscopy, SEM, SEM-EDS, X線 μ CT, X線分析顕微鏡などを用いて、解析を行った。モササウルス類の顎骨では原始的な歯槽(sub-thecodont)の存在が確認できた。歯槽に埋入している歯根象牙質の厚さは歯冠象牙質に比較して薄かった。象牙質の成長線が確認された。またワニ類に比較して、歯髓腔の形態に違いが認められた。モササウルス類のセメント質では、無細胞セメント質と有細胞セメント質が確認できた。有細胞セメント質には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。血管孔の大きさは有細胞セメント質では小さく、顎骨では大きく、ハバース管が観察された。有細胞セメント質は顎骨と骨性結合しているが、その境界は不明瞭であった。顎骨では、象牙質やセメント質に比較してFeがやや密に分布していた。モササウルス類は歯根膜が存在せず、歯の形成や萌出はワニ類と異なると考察される。セメント質や槽生性結合の起源は白亜紀あるいはそれ以前である可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Analysis of the origin of cementum based on marine reptile mosasaurus fossils

○Mishima H¹, Chiba T², Miake Y³

¹Dept Dent Eng, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ²Res Cent Elec Microsc, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Archosaurs, including dinosaurs and mosasaurus, have been reported to have the socket (Bertin et al., 2018; Caldwell et al., 2003; Liu et al., 2016). However, there are few detailed histological studies on the cementum of mosasaurus. This study aimed to analyze the cementum structure and the attachment mode relationship between teeth 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 light microscopy, SEM, SEM-EDS, EPMA, X-ray μ CT and X-ray analytical microscopy. The presence of a primitive alveolar (sub-thecodont) was confirmed in the jawbone of mosasaurs. Thin acellular cementum and thick cellular cementum existed. Unlike Crocodylia, the vascular pores were present in the cellular cementum. The cellular cementum was the osseous ankylosis with the jawbone. The boundary between the cementum and jawbone was unclear. Mosasaurs do not have a periodontal ligament, and tooth formation and eruption are considered to be different from Crocodylia. It is suggested that the origin of gomphosis and cementum may have existed from the Cretaceous or earlier.

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

3-P1-P98 骨移植時における微小循環変化と骨形成の形態学的観察

○松尾 雅斗, 劉 宇豪, 松尾まりあ, 東 雅啓
神歯大 口腔解剖

【目的】各種移植材料が歯槽骨再生療法において試みられている。本研究では、生体材料と異種骨の異なる2種類の材料を血管網と歯槽骨の関係に注目し実体顕微鏡および走査型電子顕微鏡(SEM)で観察した。【方法】すべての動物実験は、本学動物倫理委員会で審査・承認(16-046)された後、指針を遵守して行った。雌ビーグル犬6頭の両側下顎小白歯を抜歯し、右側の歯槽窩には、炭酸アパタイト顆粒(CO3Ap: Cytrans granule, GC, Japan)を充填し、上部をL-lactide-ε caprolactone copolymer membrane (Cytrans elashield, GC, Japan)で被覆した。左側にはウシ由来脱灰乾燥骨(DBBM: Bio-Oss, Geistlich, Switzerland)を移植し、上部を豚由来コラーゲン膜(Bio-Gide, Geistlich, Switzerland)で被覆した。術後14日、30日、90日後に、灌流固定を行い、血管合成樹脂を下歯槽動脈から注入した。ここで得られた血管鑄型標本は実体顕微鏡とSEMで観察した。【結果と考察】術後14日目、両群とも顆粒は抜歯窩内に密に残存していた。そして既存歯槽骨方向より新生血管が、顆粒隙間に伸展していた。術後30日目には、新生血管は骨中に埋没する形で骨添加が進んでいた。抜歯窩中央部の骨形成は、CO3Ap群の方がDBBM群よりも進行していた。抜歯90日後、両群とも緻密な骨が再生された。同時に骨髓腔が形成され骨髓血管のネットワークが形成されていた。またGBRにより歯槽骨縁の高さは両群ともに維持されていた。今回の研究結果からCO3Ap、DBBMどちらの材料も足場として骨再生に有効であることがわかった。今後、動物由来の材料と化学合成された材料のどちらが歯科臨床にとって有益なのかの判断が必要であることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Microvascular changes and bone formation after Alveolar bone graft

○Matsuo M, Liu Y, Matsuo M, To M
Dept Oral Anat, Kanagawa Dent Univ

Objectives: Various grafting materials are used in clinical dental practice. In present study, synthetic and xenograft materials were used to observe the relationship of vasculature and alveolar bone. Methods: Both mandibular premolars of six beagle dogs were extracted. Right sockets was filled with Carbonated apatite granule (CO3Ap) with L-lactide caprolactone copolymer membrane. Left was filled with bovine porous bone graft material granule (DBBM) with porcine collagen membrane. The vascular resin was injected after 14, 30 and 90 days. Specimens were examined by stereoscopic microscope and scanning electron microscope (SEM). Results and Discussion: Postoperative fourteen days in both groups, granule filled the extraction sockets tightly. Newly formed blood vessels from the pre-existing bone marrow penetrated the spaces between the granules in the socket. Thirty days after surgery, the bone addition had progressed where the blood vessels were buried in the newly formed bone. Bone formation in the central region of sockets is more advanced in the synthetic graft group than xenograft graft group. Ninety days after, Extraction socket was regenerated the dense compact bone. The height of alveolar margin was maintained in both groups. The results of this research indicate that both materials are beneficial for bone regeneration.

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

3-P1-P99 マウスの抜歯後治癒におけるマクロファージ枯渇の影響

○堀部 寛治, 西田 大輔, 中村 浩彰

松歯大 口腔解剖

【目的】マクロファージは貪食能だけでなく、組織修復を調節することが知られている。我々は抜歯窩治癒過程において、組織修復性のM2マクロファージが浸潤し、TGF- β 産生することを報告している。今回、抜歯後の歯周組織治癒におけるマクロファージの役割をより詳細に調べるため、クロドロネートリポソーム投与により、マクロファージを枯渇させ抜歯窩治癒過程の解析を行った。【実験方法】クロドロネートリポソームを事前投与後、6週齢マウスの上顎臼歯を抜去し、2, 4, 7日後に上顎を採取した。マイクロCT撮影、組織学的・免疫組織学的手法、リアルタイムPCRにより、抜歯窩および歯周組織の治癒過程を経時的に解析した。【結果】抜歯後7日のコントロール群では、抜歯部位の粘膜が完全に封鎖していたが、クロドロネートリポソーム投与群では、抜歯部粘膜の治癒遅延が生じていた。マイクロCT画像解析では、クロドロネートリポソーム投与群はコントロール群と比べ、抜歯窩内の新生骨形成の低下が認められた。組織的観察において、クロドロネートリポソーム投与群は、抜歯部粘膜の治癒遅延により、歯槽骨が露出した状態にあり、表層部の骨小腔の空胞化が見られた。免疫組織学的解析により、クロドロネートリポソーム投与群はF4/80およびCD206陽性のマクロファージが全身および抜歯部局所で枯渇していることが確認された。また、エンドムチン陽性血管および α -SMA, RUNX2陽性細胞数がコントロールよりも著しく減少していた。リアルタイムPCRによる抜歯後歯周組織の遺伝子発現解析では、マクロファージより分泌される組織修復性のサイトカインであるTGF- β , PDGFBが有意に低下していた。以上の結果より、抜歯窩治癒過程においてマクロファージは血管侵入や骨芽細胞分化を促すサイトカインの分泌により歯周組織修復に重要な役割を担うことが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effect of macrophage depletion on the healing process after tooth extraction in mice

○Horibe K, Nishida D, Nakamura H

Dept Oral Anat, Matsumoto Dent Univ

[Objective] Macrophages are known to have the ability to regulate tissue healing. We have previously reported that tissue-repairing M2 macrophages infiltrate the extraction socket and produce TGF- β . In this study, to clarify the effect of macrophages on periodontal tissue healing, we performed tooth extraction in mice after administration of clodronate-liposome, which depletes macrophages, and analyzed the healing process. [Methods] Maxillary molar was extracted in mice pretreated with clodronate-liposome. The healing process of socket and periodontal tissue was sequentially analyzed by micro-CT imaging, histological/immunohistological method, and real-time PCR. [Results] Clodronate-liposome treated mice were delayed healing of mucosa at the extraction site, and micro-CT images showed inhibited calcification in the socket. Histological findings showed alveolar bone exposure and empty lacuna. In the clodronate-liposome treated group, the number of positive cells indicating the tissue healing, such as endomucin, α -SMA, and RUNX2 was significantly lower than in control group. Furthermore, real-time PCR analysis showed that TGF- β and PDGFB, tissue repairing cytokines secreted by macrophages, were significantly decreased in the clodronate-liposome treated group. These results suggest that macrophages are important for periodontal tissue repair after tooth extraction.

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

3-P1-P100 低酸素環境の歯根膜細胞より産生される炎症性サイトカインがアルツハイマー病の病因因子産生に与える影響の解析

○堤 貴司¹, 鍛冶屋 浩², 前芝 宗尚³, 後藤加寿子⁴, 岡部 幸司²

¹福歯大 総合歯, ²福歯大 細胞分子生物 細胞生理, ³福歯大 咬合修復 有床義歯, ⁴福歯大 医療短大 歯科衛生

【目的】我々は、咬合性外傷は歯根膜組織を低酸素環境にさせることやマウスの認知機能の低下および海馬におけるアルツハイマー病原因物質の発現を有意に増加させることを以前報告した。本研究は、歯根膜組織のこの低酸素ストレスがアルツハイマー病原因物質の産生に影響を与えるか明らかにすることを目的とし、歯根膜細胞の低酸素環境状態でのアルツハイマー病原因物質の産生とこの細胞の低酸素培養による培養上清刺激に対するミクログリア細胞のアルツハイマー病原因物質の産生について評価した。**【方法】**野生型マウスより初代歯根膜細胞を単離し、コントロール群と2%酸素濃度下の低酸素ストレス(LO)群に分け、炎症性サイトカイン(IL-1 β , IL-6, TNF- α)およびアルツハイマー病原因物質(APP, Tau 等)の遺伝子発現量を定量性PCR法により評価した。また、これら条件での歯根膜細胞より回収した培養上清によりマウスミクログリア細胞株(MG6)を培養し、コントロール刺激群とLO刺激群に分け歯根膜細胞と同様の解析を行った。**【結果と考察】**歯根膜細胞においてLO群はコントロール群と比較してIL-1 β , IL-6, TNF- α の発現が有意に増加していた。一方、アルツハイマー病原因物質の発現量には両群に有意な差を認めなかった。一方、ミクログリア細胞への刺激では、コントロール刺激群と比較してLO刺激群において、APPとTauの有意な発現の増加を認めた。今回の結果から、低酸素環境下で歯根膜組織から直接的にアルツハイマー病原因物質は産生されず、これら組織から放出された炎症性サイトカインがミクログリア細胞にてアルツハイマー病原因物質の産生を誘発することが示唆された。現在、タンパク質の経時的な発現変化と歯周組織から分泌された炎症性サイトカインがどのくらい脳組織に到達して活性を示すか評価する *in vivo* の実験系を模索している。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Hypoxia-induced inflammatory cytokines in PDL indirectly progress Alzheimer' disease

○Tsutsumi T¹, Kajiya H², Maeshiba M³, Goto K⁴, Okabe K²

¹Div Gen Dent, Fukuoka Dent Coll, ²Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll, ³Div Removal Prosthodont, Fukuoka Dent Coll, ⁴Div Dent Hygiene, Fukuoka Dent Coll

Purpose We have previously reported that occlusal traumatism induced hypoxia in periodontal ligament (PDL), leading to cognition decline with increase in the expression of Alzheimer' disease (AD) related molecules. The purpose of this study is to clarify whether the hypoxia in PDL have effects on progression of AD. We evaluated that the expression of AD related genes (ADG) in PDL in hypoxic environment and in microglial cells in the response to culture supernatant from PDL cells under hypoxia. **Materials & Methods** PDL cells were isolated from mice and divided into normoxia (control) and hypoxia group (LO). Expression of inflammatory cytokines and ADG was evaluated by quantitative RT-PCR. Mice microglia cells MG6 were stimulated with conditional medium from PDL under both groups. **Results & Discussion** Expression of inflammatory cytokines, IL-1 β , IL-6, and TNF- α in PDL under LO was significantly higher than control. In contrast, there was no significant difference in the expression of APP and tau between control and LO. Expression of ADG, APP and tau in the LO was significantly higher than the control in microglia cells. The inflammatory cytokines, but not ADG suggested to be secreted in PDL under hypoxia, resulting in AD progression with ADG in microglia.

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

3-P1-P101 多血小板フィブリンを用いた歯槽骨再生療法時の微小循環

○松尾まりあ, 奥寺 俊允, 東 雅啓, 松尾 雅斗

神歯大 口腔解剖

目的：多血小板フィブリン(Platelet rich-Fibrin:PRF)は自己血液から抽出された血小板由来の成長因子を多く含み、血管や骨の新生を促進すると言われている。また動物由来や合成物質を用いない自己材料のため安全性が高い特徴を持つ。本研究では抜歯窩モデルに用いて骨形成と微小循環に注目して形態学的な検討を行った。方法：本研究はビーグル犬を用い、抜歯直前に採血した20 mlの静脈血より作製したPRFを用いた。上下顎両側前臼歯部を抜去し、右側歯槽窩中にはPRFを緊密に填塞した後縫合し実験群とした。左側は抜歯後PRFを使用せず縫合し対照群とした。手術後、14日、30日、90日に灌流固定し、上顎はHE染色切片による光学顕微鏡観察を行った。下顎は下歯槽動脈より樹脂注入し血管鋳型標本を作製、実体顕微鏡ならびに走査型電子顕微鏡で観察を行った。結果と考察：術後14日、対照群では歯槽窩中央部の血餅に向かった血管新生が見られた。骨添加は既存歯槽骨面に沿った部分にのみ生じていた。実験群では、血餅の面積は減少し、抜歯窩内は新生血管で充たされていた。同時に著しい骨添加が生じ血管間隙は幼弱骨に埋没していた。術後30日、対照群の歯槽窩内は多孔性で粗造な新生骨で充たされていた。孔中には血管が存在し血管腔となっていた。実験群では密な骨形成が観察され、細い骨梁が再生されていた。それに伴い骨髓腔が形成され始め血管新生が進行していた。術後90日、骨構造の再生は両群とも成熟が進み骨梁を有する骨構造となっていた。実験群において骨梁の厚さが増し、より緻密な骨となっていた。以上のことからPRFを用いた骨造成療法により実験初期の14日後では微小血管の申請が誘導されていることが観察でき、また、血管新生に引き続く骨形成が生じる事が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Microcirculation changes and bone regeneration incident to application of platelet rich-fibrin (PRF)

○Matsuo M, Okudera T, To M, Matsuo M

Dept Oral Anat, Kanagawa Dent Univ

Objectives: Platelet rich-fibrin (PRF) is known to have remarkable vascular and bone regeneration due to its high content of platelet-derived growth factors. In this study, we investigated morphology of tooth extraction socket model, focusing on bone formation and microcirculation. Methods: PRF was prepared from beagle dogs before tooth extraction. Premolars were extracted, and right side of sockets was tightly filled with PRF. Left side was without PRF served as control group. After 14, 30, and 90 days, HE sections were observed under light microscope. The vascular resin casts were observed with a scanning electron microscopy (SEM). Results and Discussion: Fourteen days after surgery, control group showed angiogenesis toward blood clot in central area. In PRF group, clots was reduced and extraction socket was filled with neovascularization. Thirty days after, the socket of control group was filled with porous new bone. In PRF group, dense osteogenesis was observed, and thin bone trabeculae regeneration occurred. Ninety days after, regeneration of bone structure had matured to a bone structure in both groups. In PRF group, the thickness of trabeculae increased and bone became dense. These results indicate that PRF induced angiogenesis promotes bone formation.

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

3-P1-P102 卵巣摘出ラットモデルにおけるエストロゲン欠乏と歯周病進行の相関関係について—一歯周病罹患組織のブラッシングによる損傷レベルの観察—

○天野カオリ¹, 稲葉啓太郎², 松尾 雅斗³

¹神歯大 解剖, ²神歯大 微生物, ³神歯大 口腔解剖

閉経前後世代の女性において、急速なエストロゲン減少が招く骨粗鬆症を代表とする種々の疾患や不調に加えて歯周炎のリスクが高くなることが知られている。また加齢による唾液腺の線維脂肪化に伴う唾液分泌量減少も歯周病の増悪要因としてあげられる。本研究は卵巣摘出ラットモデル OVX を使用し、エストロゲン欠乏環境下で *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) ATCC 33277 株にて実験的歯周炎を惹起させ、歯肉と舌筋に日常的な機械刺激を想定して電動歯ブラシを使用しブラッシングを行った場合の歯周炎組織細胞が受ける損傷レベルを観察することを目的とする。実験には 8 週齢ラット OVX 群 24 匹と偽手術 sham 群 6 匹を使用した。1 週間後、実験的歯周炎を惹起させるため 5% カルボキシメチルセルロースと混合した *P. gingivalis* を 2 週間 2 日おきに計 5 回塗布し、2 週間後に再度感染を施行した。感染群と非感染群はそれぞれ隔離して飼育を行った。また普通飼料投与群に加えてイソフラボン含有飼料投与群、普通飼料投与と β エストラジオール 0.1 mg を 21 日間皮下に埋め込んだ 3 群に分けた。約 9 週間後に吸入麻酔下で電動歯ブラシを使用し、下顎中切歯間部歯肉と片側舌筋のブラッシングを専用の測定器使用下にて 1 分間行った。11 週齢ラットの体重は OVX 群が Sham 群より平均 18 g 増量し軽度肥満個体もみられた。ブラッシング後 3 時間後に深麻酔下で 4% パラホルムアルデヒド PBS 溶液にて灌流固定し、上顎下顎骨を含む歯間歯肉部と舌筋と共に、唾液腺を摘出した。通法に従い凍結試料を作成し 7 μ の凍結切片を作成した。損傷細胞の標識抗体として *C-fos* 抗体を使用した。*C-fos* は感染群ブラッシング後 3 時間後の歯肉と舌筋細胞の上皮と上皮直下に豊富に観察されたが、本実験において *P. gingivalis* に感染させた OVX 群と Sham 群との損傷レベルに明瞭な差は認められなかった。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Correlation between estrogen level and periodontal disease progression in OVX rats

○Amano K¹, Inaba K², Matsuo M³

¹Dept Anat, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ²Div Microbiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ³Div Oral Anat, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

It is known that post-menopausal women have an increased risk of periodontitis in addition to various diseases due to rapid estrogen loss. The aim of this study was to observe the level of periodontitis tissue cell disruption in ovariectomized (OVX) rats when inflammation such as periodontitis was induced in an estrogen-deficient environment. **Material & methods** 30 female rats were used in this experiment: 24 eight-week-old OVX rats in the experimental group and 6 eight-week-old sham rats in the control group, half infected with *P. gingivalis* to induce periodontitis. They were further divided into three subgroups which were fed regular food, food containing soy isoflavones, and regular food with β -estradiol pellets implanted. Sixty days later, the mandibular incisor gingiva and the tongue of all rats were brushed with an electric toothbrush under anesthesia for one minute at a constant pressure. After three hours, all rats were perfused the mandibular and maxilla gum, the tongue, and the salivary gland were removed and prepared in frozen sections. **Results & discussion** The *P. gingivalis* infected group generated more *c-fos* expression in both gum and tongue muscles cells below the epithelium; however, no significant correlation was found between wound level and estrogen level.

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

3-P1-P103 *Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS の慢性投与で発症する心機能障害に対する心臓型アデニル酸シクラーゼの抑制効果

○角田 通則¹, 大貫 芳樹², 吹田 憲治², 松尾 一郎¹, 早川 佳男³, 清本 賢一¹, 森井 彰伸¹, 成山明具美⁴, 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 小児歯

【目的】歯周病患者は交感神経活性が亢進していることが臨床研究で報告されている。慢性的な交感神経活性の亢進は心疾患を誘発する。抗ヘルペス薬ビダラビン (Vid) は心臓型アデニル酸シクラーゼを選択的に阻害することで、交感神経活性亢進による心機能障害を抑制する。本研究では歯周病患者の血液中に検出される *Porphyromonas gingivalis* 由来 Lipopolysaccharide (PG-LPS) と同等の歯周病モデルマウスを作製し、PG-LPS による心機能障害に対する Vid の抑制効果を検討した。【方法】C57BL/6/J マウス (オス 12 週齢) を、1) PBS 投与群 (Control 群), 2) PG-LPS (0.8 mg/kg/day : 腹腔内投与) 投与群 (LPS 群), 3) ビダラビン投与群 (15 mg/kg/day : 浸透圧ポンプ投与 : Vid 群), 4) LPS とビダラビンの併用投与群 (LPS + Vid 群) の 4 群に分けた。浸透圧ポンプのマウスへの埋め込み手術は LPS の投与開始 3 日前に行い、LPS 投与開始から 7 日後にイソフルレンによる吸入麻酔下で心エコーを用いて心機能測定を行った。実験終了後に心臓を摘出し、Masson-trichrome 染色を行い、心筋線維化領域の評価を行った。【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。しかしながらビダラビンを併用した LPS + Vid 群での心機能の低下は有意に抑制された。2) 心筋線維化領域 (Masson-trichrome 染色) は LPS 群では有意に増加したが、LPS + Vid 群では心筋線維化領域の増加は有意に抑制されていた。【結論】PG-LPS の投与による心機能障害はビダラビンの投与により抑制された。この結果は心臓型アデニル酸シクラーゼの抑制は歯周病に合併する心疾患の治療への有効性を示唆している。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Effects of adenylyl cyclase inhibition on cardiac dysfunction in mice treated with *Porphyromonas gingivalis* LPS

○Tsunoda M¹, Ohunuki Y², Suita K², Matsuo I¹, Hayakawa Y³, Kiyomoto K¹, Morii A¹, Nariyama A⁴, Gomi K¹, Okumura S²

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

Patients with periodontal disease (PD) have enhanced heart rate and decreased heart rate variability, which is a risk factor for the cardiovascular disease (CVD) and may reflect profound alteration of sympathetic nerve activity. We tested whether cardiac adenylyl cyclase (AC) inhibitor (Vid:vidarabine) could attenuate cardiac dysfunction in mice treated with *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide (PG-LPS) at a dose equivalent to the circulating levels in periodontitis patients for 1 week. Mice were divided into 4 groups: 1) Control, 2) PG-LPS (0.8 mg/kg/day:ip), 3) Vid (15 mg/kg/day:osmotic pump) and 4) Vid + PG-LPS. Change of body weight and consumption of food and water were similar among the four groups. We examined cardiac function by echocardiography and found that cardiac function in terms of ejection fraction was significantly decreased in PG-LPS-treated group (Control (n=6) vs. PG-LPS (n=7): 67 ± 1.1 vs. 61 ± 0.9%, P < 0.01). However, co-treatment of Vid significantly reduced cardiac dysfunction induced by PG-LPS (PG-LPS (n=7) vs. PG-LPS + Vid (n=7): 61 ± 0.9 vs. 67 ± 1.4%, P < 0.01). In addition, the myocardial fibrosis was significantly increased in PG-LPS group and co-treatment of Vid significantly attenuated myocardial fibrosis. These data suggest that AC5 might be a therapeutic target for the treatment of CVD in patients with PD.

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

3-P1-P104 臨床的効能を裏付ける硫酸化多糖類フコイダンの特性

○岡 俊哉¹, 今井あかね^{2,3}

¹日歯大新潟 生物, ²日歯大新潟 生化, ³日歯大新潟短大 歯科衛生

【目的】フコイタンは海藻類に多く含まれる硫酸化多糖の総称であり、抗腫瘍効果、がん細胞のアポトーシス促進、免疫活性化作用を始めとして極めて多様な作用が報告されている。演者らの研究グループはフコイタン含有クリームやジェルを使用して、再発性アフタ、白板症、紅板症、扁平苔癬などの前癌病変や口唇ヘルペス、外傷、慢性的な舌痛（SPT）が改善した症例を随時報告してきた。並行してフコイダンの臨床的効能を裏付ける特性を明らかにすることを目的とした基礎研究に取り組んでおり、新規に得られた知見を報告する。

【方法】由来藻類、精製度、および分子量の異なるフコイタン、*Fucus vesiculosus crude*、および pure (95%) (SIGMA)、*Cladosiphon novae-caledoniae* 由来低分子化フコイタン（第一産業株式会社）の3種を用い、(1)ステロイド代替薬としての可能性を探る非ステロイド系抗炎症剤の標的酵素シクロオキシゲナーゼ（COX）、1及び2の阻害活性、(2)コラゲナーゼ（Human MMP13）阻害活性、および3種のフコイダンのヨウ素含有量を調べた。

【結果】フコイタンはシクロオキシゲナーゼ、およびコラゲナーゼ阻害活性を示した。用いた3種のフコイタンで陽性反応が見られたものの、活性の強弱などには相違がみられた。またヨウ素分析の結果、三者の含有量は検出限界以下で、差は見られなかった。

【結論】フコイタンが示した特性は口腔医療分野へ応用できる可能性を示唆するものと考えられたが、精製度や由来による作用の差に関してはさらなる検証が必要である。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Properties of fucoidan sulfated polysaccharides that support clinical efficacy

○Oka S¹, Imai A^{2,3}

¹Dept Biol, Nippon Dent Univ at Niigata, ²Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, ³Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ Coll at Niigata

Objective: Fucoidans are sulfated polysaccharides found in marine algae. We have reported several cases of oral healthcare in which recurrent aphthous stomatitis was markedly improved by fucoidan-containing cream and gel. The aim of this study was to examine the properties of fucoidans that support their use in oral healthcare.

Materials and Methods: Inhibition of cyclooxygenase (COX) 1 and 2, the target enzymes of non-steroidal anti-inflammatory drugs; inhibition of collagenase (human MMP13); and iodine content were investigated for three types of fucoidans derived from different materials.

Results: The three fucoidans showed COX and MMP13 inhibitory activity, but there were differences among the fucoidans in the strengths of these activities. In the iodine analysis, the contents of the three fucoidans were below the detection limit.

Conclusions: The properties of fucoidans suggest the possibility of application in oral healthcare. However, further studies are required to determine the factors that cause differences in the activities of the three types of fucoidan.

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

3-P1-P105 酸化ストレス阻害薬 (アロプリノール) の *Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS (PG-LPS) による心機能障害に対する効果

○森井 彰伸¹, 吹田 賢治², 松尾 一朗¹, 伊藤 愛子³, 清本 賢一¹, 角田 道則¹,
成山明具美⁴, 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 矯正, ⁴鶴大 歯 小児歯

【目的】歯周病は心疾患発症に影響を与えている事が臨床研究で示唆されている。心疾患発症の原因として、心筋細胞内において、酸化ストレスの一つであるキサンチンオキシダーゼ (XO) の発生が示唆されている。しかしながら歯周病と心疾患発症における酸化ストレスの関連については不明である。本研究では歯周病患者の血液中に検出される濃度と同様の *Porphyromonas gingivalis* 由来内毒素 PG-LPS を慢性投与した歯周病モデルマウスを作成し、XO 阻害薬であるアロプリノール (ALLO) を使用し歯周病由来の心機能低下に対するアロプリノールの効果について検証する。【方法】C57BL/6J マウス (オス 12 週齢) を用いて、1) PBS 投与群 (Control 群), 2) PG-LPS (0.8 mg/kg/day: 腹腔内投与) 投与群 (LPS 群), 3) アロプリノール投与群 (50 mg/kg/day: 飲水投与: ALLO 群), 4) LPS とアロプリノールの併用投与群 (LPS + ALLO 群) を作成した。ALLO 投与は実験開始 2 日前より飲水投与を行い、LPS 投与を 7 日間連続投与後、心エコーにて心機能測定を実施、実験終了後に心臓を摘出し臓器重量の測定を行った。【結果】Control 群と比較して LPS 投与群での心機能 (左室駆出率 (LVEF), 左室内径短縮率 (FS)) は有意に低値を示した。しかしながら ALLO 併用投与群における心機能の低下は有意に抑制された。心臓重量は各群間で有意差はなかった。【結論】PG-LPS の投与による心機能低下はキサンチンオキシダーゼ阻害薬 (アロプリノール) の併用投与により抑制された。アロプリノールは歯周病原菌の LPS による心疾患発症に対して有効な治療薬としての効果が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Inhibition of xanthine oxidase protects heart from *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide-induced cardiac dysfunction

○Mori A¹, Suita K², Matsuo I¹, Ito A³, Kiyomoto K¹, Tsunoda M¹, Nariyama M⁴,
Ohnuki Y², Gomi K¹, Okumura S²

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

Periodontitis (PD) is accepted to induce cardiovascular disease (CVD) but the mechanism remained poorly understood. Oxidative stress is implicated in cardiac remodeling and CVD. We tested whether xanthine oxidase inhibitor (allopurinol) could attenuate cardiac dysfunction in mice treated with *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide (PG-LPS) at a dose equivalent to the circulating levels in periodontitis patients for 1 week. Mice were divided into 4 groups: 1) Control 2) PG-LPS-treated group (0.8 mg/kg/day i. p.), 3) Allopurinol-treated group (50 mg/kg/day p. o.), and 4) PG-LPS + allopurinol-treated groups. Change of body weight and consumption of food and water were similar among the four groups. We examined cardiac function by echocardiography and found that cardiac function was significantly decreased in PG-LPS-treated group (Control (n=6) vs. PG-LPS (n=7): 68 ± 1.3 vs. 61 ± 1.3%, P < 0.001). However, co-treatment of allopurinol significantly reduced cardiac dysfunction induced by PG-LPS (PG-LPS (n=7) vs. PG-LPS + allopurinol (n=7): 61 ± 1.3 vs. 68 ± 1.3%, P = NS). These data suggest that inhibition of xanthine oxidase with allopurinol might protect heart from PG-LPS remodeling and CVD.

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

3-P2-P106 象牙質形成および再生過程における CD146 の局在

○渋谷 徹¹, 細矢 明宏², 建部 廣明², 高橋 昌己¹, 入江 一元¹

¹北医療大 歯 解剖, ²北医療大 歯 組織

【目的】 CD146 および alpha-平滑筋アクチン (SMA) は, 様々な組織において血管周囲に存在する未分化細胞で発現が認められることが知られている. 本研究では, CD146 の象牙芽細胞分化における機能を検討する目的で, 歯の発生ならびに象牙質再生過程における局在を免疫組織化学的に検討した. 【材料と方法】 Lewis 系ラット臼歯の発生過程ならびに象牙質窩洞形成後の CD146, alpha-SMA, Osterix, 象牙質シアロタンパク (DSP) の局在を免疫組織化学的に観察した. 【結果と考察】 胎生 (E) 15 日齢の蕾状期歯胚において CD146 の特異的な反応は認められなかったが, 帽状期 (E17) 歯胚では, 歯乳頭の血管周囲で散在性に CD146 陽性細胞が認められた. この陽性細胞は, 鐘状期 (E20) 歯胚になると歯乳頭で多数認められた. 一方, alpha-SMA 陽性細胞は, E15-20 日齢の歯乳頭ではほとんど観察されなかった. 生後 (P) 28 日齢の歯髓では, CD146 および alpha-SMA 陽性細胞はともに歯髓中央部の血管周囲に局在したが, これらの陽性反応を示す血管は僅かであった. 窩洞形成後の歯髓では, 4 日後から窩洞直下の象牙質表面に Osterix 陽性の象牙芽細胞が出現し, 修復象牙質形成が認められた. この修復象牙質近傍に認められる血管のほとんどは CD146 陽性を示したが, alpha-SMA は陰性だった. 7 日後, DSP 陽性の厚い修復象牙質が認められるようになると, 象牙芽細胞における Osterix の反応は消失した. また, 窩洞直下の歯髓において CD146 陽性を示す血管は減少した. 以上の結果より, CD146 陽性細胞は象牙質形成開始時の歯乳頭および歯髓に多数認められたことから, 象牙芽細胞分化に重要な役割を担っていることが示唆された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Immunohistochemical localization of CD146 during dentin formation and regeneration

○Shibui T¹, Hosoya A², Takebe H², Takahashi M¹, Irie K¹

¹Div Anat, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ²Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

CD146 are known to localize in stem cells and precursor cells of various tissues. In the present study, to analyze the function of CD146 in odontoblast differentiation, immunohistochemical localization of CD146 was examined during rat molar tooth development as well as after cavity preparation. CD146 localization was hardly detected in the tooth germ of bud stage. At the cap and bell stages, many CD146-positive cells were visible around blood vessels in the dental papillae, whereas the number of these cells is decreased in the dental pulp at postnatal days 28. After cavity preparation, odontoblasts positive for Osterix appeared lining the reparative dentin at 4 days. Most blood vessels near the reparative dentin showed the immunoreactivity for CD146, but not for and alpha-smooth muscle actin, one of markers for undifferentiated cells. After 7 days, the number of blood vessels expressing CD146 was decreased in the dental pulp beneath the cavity. Therefore, these results suggest that CD146-positive cells were mainly localized in the dental papillae and dental pulp at the beginning of dentin formation, and thus play important roles in odontoblast differentiation and regeneration.

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

3-P2-P107 小臼歯と大臼歯の咬頭の相同性に関する発生学的検討

○ハイデル エムデイヤシン^{1,2}, 岩井 治樹¹, 倉本恵梨子¹, 後藤 哲哉¹, 中村 典史², 山中 淳之¹

¹鹿大 院医歯 機能形態, ²鹿大 院医歯 顎顔面外科, ³国立科学博物館 人類研究

Developmental assessment on the cusp homologies between the premolar and the molar

○Haider Y^{1,2}, Iwai H¹, Kuramoto E¹, Goto T¹, Nakamura N², Yamanaka A¹

¹Dept Anat Oral Sci, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Dept Oral Maxillofacial Surg, Kagoshima Univ Grad Sch of Med Dent Sci, ³Dept Anthropol, Natl Museum of Nature & Sci

The premolar analogy theory says that the premolar tooth is a simplified molar tooth, and that there must be homologies between the premolar and molar cusps. According to this theory, in humans, the buccal and lingual cusps of the upper premolar are believed to be homologous to the mesiobuccal and mesiolingual cusps (the paracone and protocone) of the upper molar, respectively. The purpose of this study is to evaluate the premolar analogy theory from a developmental viewpoint.

The research design of this study has two fundamental features. Firstly, our identification of cusp homologies relied on orders of appearance and three-dimensional topological relationships of the secondary enamel knots (EKs), the signaling centers which will determine the future cusp positions. We used expression patterns of *Shh* and *Fgf4* mRNAs to identify the EKs. Secondly, we introduced the house shrew, *Suncus murinus* (Soricidae, Eulipotyphla), as an experimental animal. This insectivorous mammal species possesses full set of tooth types including the canine and premolar, unlike the mouse. We studied cusp formations of the upper canine (C), the upper fourth premolar (P⁴) and the upper first molar (M¹) in this animal.

In the canine development of the house shrew, the primary enamel knot (EK) was identified at the cap stage, and its single structure was kept through the bell stage, which finally formed the single cusp of the canine, suggesting that this could be a basic morphogenetic mode of the unicusped tooth. In the molar development, the primary EK at the cap stage extended distally and split into two domains as the tooth germ grew largely in the distal direction, forming two secondary EKs. The mesial and distal ones formed the paracone and metacone (the mesiobuccal and distobuccal cusps in the human molar), respectively, resulting two buccal cusps in the molar. In the premolar, on the other hand, the primary EK at the cap stage kept its single structure through the later stages, but moved distally, forming the single buccal cusp with sharp distal ridge. These results indicate that the buccal cusp of the premolar is homologous to the single cusp of the canine and the mesiobuccal cusp of the molar. We are going to elucidate the homology of the premolar lingual cusp by exploring the further later stages in the future.

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

3-P2-P108 象牙芽細胞における細胞膜 Ca²⁺-ATPase は象牙質石灰化を調節する

○木村 麻記¹, 黄地 健仁¹, 佐藤 涼一², 国分 栄仁³, 黒田 英孝^{1,4}, 安藤 正之¹,
河野 恭佑¹, 野村 幸恵¹, 澁川 義幸¹

¹東歯大 生理, ²東歯大 衛生, ³東歯大 微生物, ⁴神歯大 院歯 歯科麻酔

象牙芽細胞に細胞膜 Ca²⁺-ATPase (PMCA) が発現することは報告されているが, PMCA のサブタイプの mRNA 発現レベルや PMCA の薬理的性質, 細胞機能における役割は不明である. そこで本研究は, ヒト培養象牙芽細胞 (HOB 細胞) を用いて生理的条件下での PMCA の mRNA レベルと石灰化への寄与について検討した. 加えて, HOB 細胞とラット急性単離象牙芽細胞において低浸透圧刺激と高 pH 刺激で誘発される細胞内遊離 Ca²⁺濃度増加時の Ca²⁺排出経路に対する PMCA の関与を検討した. HOB 細胞から PMCA1-4 の mRNA が検出された. PMCA2 の mRNA レベルは他のサブタイプの mRNA レベルに比べて有意に低かった. 免疫蛍光染色において, HOB 細胞は抗 PMCA1 抗体に陽性反応を示した. 細胞外 Ca²⁺存在下で, ラット急性単離象牙芽細胞と HOB 細胞に膜伸展刺激を誘発する低浸透圧刺激または高 pH 刺激を加えると細胞内遊離 Ca²⁺濃度 ([Ca²⁺]_i) は一過性に増加した. 増加した Ca²⁺の細胞外への排出は非選択的 PMCA 抑制薬である 5(6)-carboxyeosin (CE), caloxin 1b1 の投与で有意に減少した. Alizarin red 染色と von Kossa 染色において, CE と caloxin 1b1 は石灰化誘導培地中で培養した HOB 細胞による石灰化を有意に抑制した. 高 pH 刺激は dentin matrix protein-1 (DMP-1) と dentin sialophosphoprotein (DSPP) の mRNA レベルを増加した. pH 7.4・8.8 条件下, 等張・低張条件下での CE の投与は DMP-1 と DSPP の mRNA レベルに影響しなかった. 象牙芽細胞に PMCA1-4 の mRNA とタンパク質レベルでの PMCA1 が発現することが示された. 象牙芽細胞において PMCA は [Ca²⁺]_i の恒常性維持に関与していることが示唆された. 加えて, PMCA を介した石灰化前線への Ca²⁺排出が, 生理的条件下での象牙質形成と象牙質表面への刺激で生じる象牙細管内液移動による象牙芽細胞膜伸展や高 pH 製剤投与時のアルカリ刺激に伴う象牙質形成に重要な役割を果たすことが示唆された.

会員外共同研究者: 岩崎美友

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Plasma membrane Ca²⁺-ATPase in human and rat odontoblasts regulates dentin mineralization

○Kimura M¹, Ouchi T¹, Satou R², Kokubu E³, Kuroda H^{1,4}, Ando M¹, Kono K¹, Nomura S¹,
Shibukawa Y¹

¹Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, ²Dept Epidemiol Public Health, Tokyo Dent Coll, ³Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll, ⁴Dept Dent Anesthesiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

Odontoblasts express plasma membrane Ca²⁺-ATPase (PMCA). However, the detailed expression pattern of PMCA, their pharmacological properties and cellular functions remain unclear. Thus, in this study, we investigated PMCA mRNA levels and their contribution to mineralization in human dental pulp cells showing odontoblast differentiation (HOB cells). We also examined the pharmacological properties of PMCA. mRNA encoding PMCA1-4 was detected in HOB cells. The application of hypotonic or alkaline solution transiently increased [Ca²⁺]_i in acutely isolated rat odontoblasts and HOB cells. PMCA inhibitors decreased the Ca²⁺ extrusion efficiency during hypotonic or alkaline solution-induced [Ca²⁺]_i increase. Alizarin red and von Kossa staining demonstrated that PMCA inhibition suppressed mineralization levels by HOB cells. Alkaline stimulation to HOB cells upregulated the mRNA levels of dentin matrix protein-1 (DMP-1) and dentin sialophosphoprotein (DSPP). The PMCA inhibitor had no effect on DMP-1 or DSPP mRNA levels at pH 7.4-8.8 and under isotonic and hypotonic conditions, respectively. These findings suggest that PMCA is involved in maintaining [Ca²⁺]_i homeostasis in odontoblasts. In addition, PMCA in odontoblasts participates in dentinogenesis under the physiological and the pathological condition following mechanical stimulation by hydrodynamic force inside dentinal tubules or alkaline stimulation by application of high pH dental materials to odontoblasts.

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

3-P2-P109 髓床底部への意図的穿孔形成がマウス臼歯再植後の歯髄治癒過程に及ぼす影響

○佐野 拓人^{1,2}, 大島 邦子³, 岡田 康男², 佐藤 拓一¹, 大島 勇人⁴

¹新潟大 院保健 臨床化学, ²日歯大新潟 病理, ³新潟大 院医歯 小児歯, ⁴新潟大 院医歯 硬組織形態

【目的】我々は、マウス臼歯を再植する前に歯根短縮術を施すと、歯髓内に早期の血行回復が起こり、歯髓静的幹細胞の活性化を促すことを明らかにした (Dent Traumatol. 2021 Apr 16. doi: 10.1111/edt.12679)。しかし、歯根短縮術は根尖部歯髓に存在する幹細胞群 SCAP を失うこととなり、また歯根が短いことは歯の長期的予後を悪化させることから、今回我々は、髓床底部への意図的穿孔形成が歯の再植後の歯髓治癒過程に及ぼす影響を検証した。

【方法】深麻酔下で3週齢マウス上顎両側第一臼歯を抜去後、左側(対照群)は即時再植し、右側(実験群)は髓床底に直径0.5 mmのカーバイドバーで穿孔形成し抜歯窩に再植した。術後3日~8週まで経時的にアルデヒド系固定液にて灌流固定し、EDTAで脱灰・パラフィン包埋後、頭部矢状断パラフィン切片を作製し、象牙芽細胞分化マーカーであるNestin免疫組織化学を行った。画像解析ソフトを用いて、対照群・実験群の術後1週と2週で歯髓・象牙質界面のNestin陽性率を比較した。

【結果と考察】穿孔形成し再植した実験群では、単に再植した対照群に比較し穿孔部から早期の血行回復が起こり、歯髓治癒が促進する傾向が確認され、術後2週の実験群の再植歯遠心根で、Nestin陽性率が有意に増加した。従って、髓床底部への意図的穿孔形成が髓床底部からの早期の血行回復を促し、歯髓静的幹細胞を賦活し、歯の再植後の歯髓治癒を促進することが示唆された。しかしながら、今回の実験では髓床底穿孔部での骨形成・アンキローキスが惹起されたことから、今後は穿孔の大きさを調整し髓床底部での骨形成・アンキローシスを抑制し歯髓治癒を促進する方法論の確立が必要である。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

The effect of intentionally perforating the floor of pulp chamber on pulpal healing after tooth replantation in mice

○Sano H^{1,2}, Nakakura-Ohshima K³, Okada Y², Sato T¹, Ohshima H⁴

¹Div Clin Chem, Niigata Univ Grad Sch Health Sci, ²Dept Pathol, Nippon Dent Univ at Niigata, ³Div Pediatr Dent, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁴Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Objective: This study aimed to elucidate the effects of intentionally perforating the floor of pulp chamber on pulpal healing after tooth replantation.

Methods: Maxillary first molars of three-week-old ICR mice were extracted and repositioned into the original socket under deep anesthesia: the left teeth were immediately replanted (control group: CG), whereas the floor of pulp chamber was perforated with a tungsten carbide bur (diameter = 0.5 mm) before tooth replantation (experimental group: EG). The samples were collected during 3 days to 8 weeks after the operation. The animals were perfusion-fixed, dehydrated, and embedded into paraffin. Immunohistochemistry for Nestin was conducted in the paraffin sections.

Results and Conclusions: Early revascularization occurred to facilitate the pulpal healing in the EG compared with the CG, especially the rate of Nestin-positive perimeter in the distal root significantly increased. Thus, intentionally perforating the floor of pulp chamber provides the route via the floor for early revascularization, resulting in the better pulpal healing after tooth replantation. However, the further improvement of the procedure is necessary, since the replants in the EG showed the ankylosis at the floor.

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

3-P2-P110 MTA により誘導された根尖部硬組織の病理組織学的評価

○宮本 侑果¹, 木方 一貴², 松岡 太相¹, 中尾 寿奈¹, 江原 道子¹, 落合 隆永¹,
河野 哲², 永山 元彦¹

¹朝日大 歯 口腔病理, ²朝日大 歯 保存

【背景】MTA (Mineral trioxide aggregate) は根管内と根管外の交通を遮断し, 硬組織誘導が期待できる歯内療法材料である。しかし, MTA による硬組織誘導の生物学的な動態については不明な点も多い。今回, MTA により根尖部に硬組織形成が確認された抜去歯を用いて MTA の硬組織誘導能を解析した。【方法】MTA を用いて apexification を行ったところ, 根尖部に硬組織形成を確認したが矯正的理由で抜歯対象となった歯を患者の同意を得て 10% 中性緩衝ホルマリン液で 48 時間固定した (朝日大学歯学部倫理審査委員会 承認番号 30002)。その後 μ CT 撮影を行い, mineral density (MD) 画像と Volume of MD (VMD) 値を算出した。その後 10% EDTA で 3 週間脱灰を行い, 4 μ m の薄切片を作製し, H-E 染色, 免疫染色 (DMP1, Osterix, CD68) および Tartrate-Resistant Acid Phosphatase (TRAP) 染色に供した。【結果と考察】根尖部は硬組織によって完全に封鎖され, 形成された硬組織の MD 画像と VMD 値は根尖側で低く, MTA 側では高い数値を示したことから石灰化度に相当する密度に差がみられた。一方, H-E 染色で形成された硬組織中には改造線や骨髓様組織がみられた。また, 一部に空胞状あるいは泡沫状の細胞が集簇し, これらは CD68 に陽性を示したが, DMP1, Osterix, TRAP には陰性であった。根尖部に形成された硬組織は MTA 誘導性に生じた骨/セメント質様硬組織で, 一部に CD68 陽性マクロファージによる MTA に対する異物反応を示しながら, 骨/セメント質様硬組織による根尖閉鎖に至ったと考える。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Histopathological study of hard tissue induced by Mineral trioxide aggregate

○Miyamoto Y¹, Kiho K², Matsuoka T¹, Nakao J¹, Ehara M¹, Ochiai T¹, Kawano S²,
Nagayama M¹

¹Dept Oral Pathol Div Oral Phogenesis Dis Control, Asahi Univ Sch Dent, ²Dept Endodont, Div Oral Funct Sci Rehabil, Asahi Univ Sch Dent

The purpose of this study is to investigate whether hard tissue formation can be induced by Mineral trioxide aggregate (MTA). We analyzed an extracted tooth, an endodontic case that confirmed the apical closure in X-ray via apexification with MTA. The extracted tooth was fixed with formalin, proceeded into the micro focusing CT analysis, decalcified and embedded paraffin, and sliced four micrometer thin sections. Micro focusing CT images with the volume of mineral density (VMD) and histological findings revealed moderate-high mineral density bone-like region, cementum and bone marrow or granulation tissue without bacterial infection, and included a vacuolar cell cluster inside the apical side. These vacuolar cells were CD68 immunopositivity but were negative for DMP1 and Osterix immunohistochemistry nor TRAP staining. We suggested that apical closure occurred due to bone/cementum-like hard tissue formation due to high MTA osteoinduction activity and CD68 positive macrophages foreign body reaction.

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

3-P2-P111 根面う蝕モデル：酸による根面内在性タンパク分解酵素の活性化

○櫻井 泉^{1,2}, 真柳 弦^{1,3}, 山田 聡², 高橋 信博¹

¹東北大 院歯 口腔生化, ²東北大 院歯 歯内歯周治療, ³東北大 院歯 歯学イノベーション
シヨンリエゾンセ 先端教育開発

【目的】 8020 運動の奏効により, 高齢になっても自身の歯を保持することが可能となってきた。一方, 加齢や歯周疾患による歯肉退縮に伴い, 残存歯の根面が露出することで, 根面う蝕が増加している。有機質成分が2~3割を占める根面う蝕では, 酸による脱灰に加えて, 有機質の分解も関与することが明らかになっている (Takahashi, Nyvad: Caries Res; 2016)。本研究では, 根面に存在する内在性タンパク分解酵素の酸による活性化について, 根面う蝕モデルを用いて検討した。

【方法】 ウシの中切歯歯根部の半側をインレーワックスで覆い, 酸溶液 (50 mM 乳酸緩衝液, pH 4.0) に48時間浸漬して脱灰した。その後水平断し, 厚さ0.5 mmの円筒状根面歯質片を作製した。根面をゼラチン蛍光基質 (pH 7.0) に浸漬し, 37°Cで2時間インキュベート後, 蛍光実体顕微鏡を用いて蛍光像を撮影し, 根面に存在するタンパク分解活性を評価した。

【結果および考察】 酸浸漬した根面は, 酸非浸漬の根面と比べ, 強い蛍光を発し, 酸によって歯質の内在性タンパク分解活性が活性化されることが分かった。根面表層では酸による脱灰に加え, 内在性タンパク分解酵素が活性化され, 有機質が分解されることが示唆される。また, 蛍光強度は, 酸浸漬根面の表面から内部に行くに従い減少したが, 歯髓腔周辺では再び高くなった。前者は酸によって活性化された歯質の内在性タンパク分解酵素に由来するものと考えられるが, 後者は象牙芽細胞のタンパク分解酵素に由来するものと考えられる。今後, 根面歯質の内在性タンパク分解酵素活性の酸活性化条件を精査することで根面う蝕の病態を解明するとともに, 根面う蝕に対するタンパク分解酵素インヒビターの効果を検討する予定である。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Root caries model: Acid-induced activation of endogenous proteases embedded in root surfaces

○Sakurai I^{1,2}, Mayanagi G^{1,3}, Yamada S², Takahashi N¹

¹Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ²Dept Periodontol Endodont, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ³Div Adv Educ Dev Liaison Cent Innov Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Objective The protein degradation has been suggested to play a role in root caries formation in addition to the demineralization [Takahashi and Nyvad: Caries Res; 2016]. Therefore, we investigated the acid-induced activation of proteases embedded in root surfaces using a root caries model.

Materials and Methods The half area of the root surface of each bovine incisor was covered with inlay wax, and the root surface was demineralized by acid solution (50 mM lactic acid buffer, pH 4.0) for 48 hours. Those roots were cut horizontally and cylindrical specimens with a thickness of 0.5 mm were prepared. The specimens were then immersed in gelatin fluorescent substrate at pH 7.0 and 37°C for 2 hours, and the proteolytic activity was evaluated by fluorescent stereomicroscopy.

Results and Discussion Fluorescence intensities in acid immersed sides were stronger than those of non-acid immersed sides, indicating that endogenous proteases embedded in root surfaces were activated by acid. These results suggest that acid-activated endogenous proteases dissolve organic materials in the process of root caries. We are currently evaluating the detailed conditions of protease activation and the effects of protease inhibitors.

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

3-P2-P112 顕微フーリエ変換赤外分光法による銀染色を施したう蝕象牙質の観察

○桑田（楠瀬）隆生¹，渡辺 新²，布施 恵³，楠瀬 有紗⁴

¹日大松戸歯 教養生物，²日大松戸歯 組織，³日大松戸歯 教養化学，⁴大塚くすのせ歯科

【目的】う蝕部の正確な検出は，二次う蝕や過剰な歯質の切削を防ぐ上で極めて重要である。象牙質う蝕は，細菌感染の影響が大きい外層と，感染の影響を受けた内層に大別されるが，演者らは市販の銀染色液により，その象牙質う蝕に特徴的な層構造を確認できることを明らかにした。この結果は，銀染色法のう蝕検知への応用の可能性を示しているが，銀染色によるう蝕検出の機序や安全性を理解する上で，染色によってう蝕各部で形成される銀化合物の同定は重要である。そこで本研究では，顕微フーリエ変換赤外分光法（micro-FTIR）を用いて銀染色により象牙質う蝕で生じる銀化合物の同定を試みた。【材料と方法】う蝕を約 0.5 mm 厚に切断後，象牙質う蝕から健全象牙質までの各部位を micro-FTIR により測定した。その後，う蝕切片を市販の銀染色試薬で染色し，染色前に測定した部位と同じ部位を再び micro-FTIR で測定した。【結果と考察】銀染色前後でう蝕切片の赤外吸収スペクトルを比較すると，染色後ではう蝕象牙質，健全象牙質共に，染色前に比べてリン酸基由来と推定されるピーク強度が低下していた。これは銀染色の過程での酢酸溶液中を用いた処理によって，う蝕切片表面が脱灰された可能性を示している。う蝕の銀染色ではリン酸銀などの形成が予想されたが，これまでのところ銀化合物由来と推定されるピークが確認できていない。リン酸銀などの銀化合物は光などの影響で容易に金属銀へと変化することが知られており，今回の結果は銀染色後のう蝕部でも金属銀への変化が生じている可能性を示している。現在，データの詳細な分析を進めると共に，染色法の最適化を試みている。本研究は JSPS 科研費 21K10236 の助成により行われた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Micro-FTIR observation of carious dentine stained with silver staining method

○Kuwada-Kusunose T¹，Watanabe A²，Fuse M³，Kusunose A⁴

¹Dept Lib Arts Biol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ²Dept Histol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ³Dept Lib Arts Chem, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ⁴Kusunose Dental Clinic at Otsuka

Correct detection of carious lesion is important to control the risk of unnecessary dental tissue removal. In general, dentin carious lesions have been divided into two different zones, the infected dentin and the affected dentine. Previously, we observed the carious lesions of dentin with silver staining method. When undecalcified ground sections of teeth were stained with the staining method, carious lesions on dentin showed layer staining pattern corresponding to the histological zone of the carious lesions. In this study, to understand the staining mechanism, we attempted to identify the silver compound to produce by silver staining using micro-FTIR. For the analyses, sections of carious teeth with the thickness of about 0.5 mm were prepared. Using these sections, FTIR spectra of sound and carious dentine before and after the staining were collected. Although it was predicted that silver compound such as silver phosphates formed by silver staining, the absorption peaks of the silver compound could not be detected. It was considered that silver phosphates formed in dental tissue are quickly reduced into silver by heat and light, inferring that reduction of the silver compound to silver metal occurred also in the stained dentine.

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

3-P2-P113 矯正用ブラケット除去後のエナメル質耐酸性に関する研究

○東理 頼亮¹, 長谷川 優²

¹日歯大新潟 病理, ²日歯大新潟短期 歯科衛生

【緒言】矯正用ブラケット（ブラケット）を除去後の歯面に残留した接着剤が、その後のう蝕抵抗性に与える影響はいくつかの研究がなされているものの、視覚的・数値的に捉えた報告は極めて少ない。本研究は、歯面に残留した矯正用接着剤がその後エナメル質表面の耐酸性に与える影響を検討したものである。【材料と方法】本格的矯正歯科治療に伴い抜歯された、ヒト上顎第一小臼歯エナメル質表面を清掃・研磨後、唇側面に直径6mmの円状マスキングを施した。次いで、歯冠部全域にトップコート塗布・乾燥後にマスキングを除去し、直径6mmの円状にエナメル質表面が露出する状態とし、実験群と対照群とに区分した。実験群は光重合型矯正用接着剤（トランスボンド, 3Mユニテック, 東京）でブラケットを装着, 24時間後にそれをブラケットリムーバーで除去後、歯面研磨を行った。対照群は歯面研磨のみでブラケットを接着しなかった。実験群・対照群を共に0.1M乳酸に浸漬し、唇側面を人工的に脱灰した。脱灰開始から2, 4, 6, 8, 10日目に μ CT装置（ScanXmate, コムスキャンテクノ, 神奈川）で撮影後、3D画像解析ソフトウェア（Molcer, ホワイトラビット, 東京）により脱灰域を抽出し、表面積と体積を計測した。【結果】脱灰部分の表面積・体積は、対照群で脱灰4日目から急激に増加し、10日目で $40.2 \pm 22.9 \text{ mm}^2 \cdot 1.39 \pm 1.01 \text{ mm}^3$ と脱灰領域が広がった。実験群では2日目から脱灰がみられ、表面積・体積は10日目で $20.6 \pm 16.1 \text{ mm}^2 \cdot 0.66 \pm 0.64 \text{ mm}^3$ となった。【考察および結論】実験群の脱灰域が対照群のほぼ1/2なのは、ブラケット接着前に酸処理したエナメル質表面から接着剤が浸透し、脱灰に対する抵抗性を示したと考察する。矯正治療後の歯面は耐酸性が得られていることが明らかとなった。故に、ブラケット除去後にエナメル質内に浸透した矯正用接着剤を完全に除去するよりも、むしろ研磨により表面を滑沢にすることが重要といえる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Study of the acid resistance of enamel after removal of orthodontic brackets

○Kanri Y¹, Hasegawa Y²

¹Dept Pathol, Nippon Dent Univ at Niigata, ²Dept Dent Hygiene, The Nippon Dent Univ Coll at Niigata

This study investigated the effect of orthodontic adhesives on the acid resistance of enamel surfaces. The human premolar extracted for orthodontic treatment was cleaned and polished, and masking was applied to the labial surface. A topcoat was then applied to the tooth crown. After drying, the masking was removed to expose the enamel surface. These samples were divided into an experimental and a control. In the experimental, bracket was attached with a photopolymerizable adhesive, and after 24 hours, removed and polished. The control had polished only. Each group were immersed in lactic acid to artificially demineralization. Measurement area was extracted using 3D image analysis software and the surface area and volume were measured up to 10 days using a micro CT device. In the control, the area expanded rapidly from the day 4, whereas demineralization started from the day 2 in the experimental and the surface area and volume were about half of the control. We considered that the experimental group developed resistance to demineralization due to the penetration of the adhesive through the surface enamel. These results suggested that after bracket removal, it is important to polish the adhesive on the enamel rather than totally remove it.

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

3-P2-P114 小児の概日リズム特性と齲蝕発生リスクの相関

○西出 真也¹, 八若 保孝²

¹北医療大 リハ 生理, ²北大 院歯 小児障害者

近年, 社会の24時間化が進み, 多様な生活スタイルが選択可能になったが, 一方で生活リズムの乱れは不眠症など健康障害の原因となっている. ヒトの生理機能には概日リズムと呼ばれる内因性の変動があり, 概日リズムの変調により起こる疾患や障害が多数報告されている. 本研究は不規則な生活習慣が齲蝕発生に及ぼす影響を調べるために実施された. 研究は北海道大学病院歯科診療センター小児・障害者歯科外来を受診した1歳から16歳の全身疾患のない患者230名を被験者とし, 同病院自主臨床研究審査委員会の審査・承認の下で行った. 本研究への参加にあたり患者の保護者に口頭で説明の上, 自由意思による同意が得られた者に対して生活習慣記録用紙を配布し, 就寝時刻, 起床時刻, 食事時刻, 間食時刻とその内容, 歯磨きの時刻・時間を8日間, 長期休暇や旅行, 学校行事のない, 平常時である時期に家庭で記録するよう依頼した. 齲蝕経験歯数は被験者の担当医の診断に基づいて判定した. 被験者の睡眠や食事時刻などの生活習慣データと齲蝕経験歯数の相関を分析した. 140名の被験者より有効な回答を得た. このうち乳歯列期の38名の記録項目と齲蝕経験歯数の関係を解析した結果, 就寝時刻, 夕食時刻, 間食回数は齲蝕経験歯数と有意な相関があった. 重回帰分析の結果, 就寝時刻や夕食時刻は間食回数とは独立した因子であることがわかった. 以上より小児期における, 夜更かしや遅い夕食は齲蝕発生の危険因子となることが示唆された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Correlations between prevalence of dental caries and circadian rhythms in children

○Nishide S¹, Yawaka Y²

¹Dept Physiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Rehab, ²Dept Dent Child Disabled Person, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Circadian rhythm is an endogenous daily variation observed in most physiological functions including salivary secretion. Irregular lifestyle causes many diseases such as obesity, sleep disorders and so on. The aim of this study is to examine the effects of the timings of sleep and meal on the prevalence of dental caries. Study was conducted at Hokkaido University Hospital. We asked 230 children (1-16 years old) to record the following life habits for 8 days: waking time, bedtime, mealtimes, snacking frequency, and tooth brushing frequency. We analyzed sleep habits from all data and compared dental caries and life habits using data from subjects. The number of dental caries assessed using the decay or filled teeth index correlated with bedtime, supper time, regularity of supper time, and snacking frequency in subjects with primary dentition. Multiple regression analysis revealed that bedtime and snacking frequency were mutually independent risk factors for dental caries. No correlations were found between the prevalence of dental caries and other measurement items. Children with daily life habits associated with eveningness have a higher prevalence of dental caries.

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

3-P2-P115 Keap1 遺伝子欠損マウスにみられる軟骨内骨化の抑制：X線 μ CTおよび水中での大気圧走査電子顕微鏡による観察

○坂井 詠子¹, 佐藤 主税², 佐藤 真理², Farhana Fatima¹, 筑波 隆幸¹

¹長大院医歯薬 歯科薬理, ²産業技術総合研 健康医工学研究

【目的】 Keap1 は、抗酸化酵素の発現を制御する転写因子 Nrf2 に結合し負に制御する。酸化ストレス下では、Keap1 は Nrf2 から離れ Nrf2 は核へ移行して転写活性を発揮する。我々は以前 Keap1 遺伝子欠損が破骨細胞分化を抑制することを明らかにした[1]。また我々は大気圧走査電子顕微鏡 ASEM を用いて、組織の脱灰や脱水処理を行わずに硬組織の観察方法を開発してきた[2]。本研究は X 線 μ CT と ASEM を用いて、マウス軟骨内骨化における Keap1 遺伝子欠損の影響を明らかにする目的で行った。

【方法】 野生型または Keap1 遺伝子欠損マウス大腿骨をアルデヒドで固定後、一方は X 線 μ CT を用いて二次骨化中心の形成を観察した。他方は 4% 寒天に包埋し PRO7 linear slicer を用い 200 μ m 厚さで長軸方向にスライスした断面を ASEM のディッシュ型試料ホルダー底面の窒化シリコン超薄膜上に置き、ラジカル除去剤であるグルコース溶液中で水中観察した。

【結果】 大腿骨遠位端から近位方向に観察していくと、野生型マウスではリン酸カルシウムが無染色でも明るく観察され、この領域が石灰化していることが示唆された。リンタンングステン酸溶液 (PTA) で染色を行うと石灰化領域周辺の細胞や微細構造が鮮明になり、軟骨細胞や海綿骨と周辺の細胞、および皮質骨が詳細に観察された。一方、Keap1 遺伝子欠損マウスでは、無染色では石灰化が観察されず、PTA 染色後には海綿骨領域において繊維状の異常な構造物が観察され不十分なカルシウムの沈着が示唆された[3]。また μ CT 画像から二次骨化中心の形成抑制が観察された。

【結語】 Keap1 は軟骨内骨化において重要な役割を果たしている。ASEM は親水環境で試料の無機・有機成分の高分解能観察を可能にする。ハイスループットな ASEM の技術は硬組織研究への応用が期待できる。 [1] E. Sakai et al, FASEB J. 31(9)4011-22 (2017) [2] C. Sato et al, Sci Rep. 9: 7352 (2019) [3] E. Sakai et al, Sci Rep. 11:5722 (2021)。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Impaired endochondral ossification in Keap1-deficient mice: observation by X-ray μ CT and atmospheric scanning electron microscopy in liquid

○Sakai E¹, Sato C², Sato M², Farhana F¹, Tsukuba T¹

¹Dept Dent Pharmacol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, ²Health Med Res, Inst Natl Inst, Adv Indust Sci Tech (AIST)

Keap1 is an oxidative stress sensor that suppresses the activation of Nrf2, a master transcription factor of antioxidant enzymes. Our previous study revealed that deletion of Keap1 gene significantly inhibits osteoclastogenesis. To observe hard tissues without decalcification or dehydration, we have developed atmospheric scanning electron microscopy (ASEM). The purpose of this study is to clarify the effect of Keap1 gene deficiency on endochondral ossification using X-ray μ CT and ASEM. Aldehyde fixed femurs of wild-type (WT) or Keap1 gene-deficient (Keap1 KO) mice were embedded in 4% agar and sliced. Samples were placed on SiN-windowed ASEM dish and SEM images were recorded using ASEM system. Moreover, fixed femurs were imaged using X-ray μ CT. Using ASEM, calcium phosphate was brightly observed in WT femur without phosphotungstic acid (PTA) staining, suggesting that this region was calcified. After PTA staining, trabecular bone and surrounding cells, cortical bone, and chondrocytes were clearly imaged. In Keap1 KO femur, no bright wall was observed without PTA staining. After PTA staining, spongy abnormal structures were revealed. Furthermore, μ CT images showed impaired formation of the secondary ossification center. Results suggest that Keap1 plays important roles in endochondral ossification. High-throughput ASEM technology allows us to observe hard tissues in high resolution.

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

3-P2-P116 カピバラ大腿骨の構造特性

○笠原 典夫¹, 菊池 布恵¹, 小川 雄大¹, 北村 啓¹, 松永 智², 阿部 伸一²,
山本 仁¹

¹東歯大 組織発生, ²東歯大 解剖

【目的】骨は自重を支持し運動器官としての役割を担うことから、微細構造は力学環境によって最適化される。そのため同じ哺乳類でも骨構造は大きく異なり、ビーグル犬の骨にはオステオンを多数確認できるが、マウスの骨は層板状を呈する。一方、カピバラは齧歯類中で最大で成獣は30 kgを超える。しかしながら、この体重を維持・機能させるための骨構造特性については不明な点が多い。そこで本研究は新生児および成獣におけるカピバラの骨組織の構造特性を解明することを目的とした。【方法】新生児および成獣カピバラの大腿骨を試料とした。5 μmの薄切切片を作製し、H-E染色を行うと同時に、Bulk染色を施した100 μmの研磨標本を作製して、微小骨折とハバース管の分布・走行を検索した。また、微小領域エックス線回折法を用いた生体アパタイト(BAp)結晶配向性とSHGイメージングによるコラーゲン線維の走行異方性解析、およびMicro CTによる骨塩量(BMD)の解析を行い、骨の質的因子について検討した。【結果】カピバラ新生児の皮質骨において、成長軟骨周囲に一次骨である類骨様構造が認められた。また、BAp結晶配向性は異方性が低く、コラーゲン線維も観察できなかった。一方、成獣では外骨膜下および内骨膜直上に層板骨が観察され、その間に二次骨として多くのハバース層板が観察され、ハバース管周囲には骨細胞がみられた。マイクロクラックはほとんどみられなかったが、多孔化した一次骨の散在を認めた。成獣大腿骨のBAp結晶配向性は骨の長軸方向に対して一軸優先配向を示し、ハバース管周囲にコラーゲン線維が同心円状に走行していた。加えて、成獣のハバース管周囲にはBMDが低値を示す領域が認められた。【考察】成獣カピバラにおいて、新生児にはみられないハバース構造がみられたことは、体重増加に伴う力学環境の変化に対応して二次骨が形成されたと考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Structural characteristics of capybara's femora

○Kasahara N¹, Kikuchi N¹, Ogawa Y¹, Kitamura K¹, Matsunaga S², Abe S², Yamamoto H¹

¹Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll, ²Dept Anat, Tokyo Dent Coll

The aim of this study was to clarify the micro/nano structure relevance to mechanical properties by investigating bone morphology and alignment of biological apatite(BAp) crystallites in neonatal and adult capybaras. The femurs were used for morphological observations of the cortical bone and bone quality analysis. The distribution and orientation of micro-cracks and Haversian system were analyzed microscopically, and the crystalline orientation was quantitatively assessed by a microbeam X-ray diffractor with a reflection-based optical system using Cu-Kα beams and a transmission-based optical system using Mo-Kα beams, and analysis of bone mineral density using Micro-CT system. There were few micro-cracks at bone area in both adult and newborn. Osteon as secondary bone were distributed between inner and outer circumferential lamella in adult, but only osteoid was observed in newborn. There was a high degree of preferential alignment in the long axis of femur in adult and collagen fibers spread concentrically surrounding Haversian canal. Furthermore, Micro-CT analysis showed low bone mineral density surrounding Haversian canal in adult femur. It was suggested that secondary osteon was performed in response to change of mechanical environment with weight gain.

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

3-P2-P117 22q11.2 欠失症候群モデルの初代軟骨細胞におけるヘテロ型 DGCR2 遺伝子の発現解析

○梶原 景正

東海大 医 分子生命

22q11.2 欠失症候群は、ヒト 22q11.2 ゲノム領域のヘテロ型欠失により引き起こされる心奇形・顎顔面形態異常・精神発達遅延などを主徴とする疾患である。我々は、ヒト 22q11.2 ゲノム領域にコードされる DGCR2 の遺伝子機能と本疾患との関連性を検討している。マウスホモログ *Dgcr2* (*Sez12*) 遺伝子のノックアウト/GFP 遺伝子ノックインマウス (*Sez12*-KO) を作成し、ホモ型 *Sez12*-KO マウスで頭蓋底軟骨結合の軟骨内骨化の異常、特に肥大軟骨細胞への分化異常を明らかとした。今回、ヒト 22q11.2 のマウス相同領域がヘテロ型に欠失する変異マウス (*Df1* マウス, *Sez12* は欠失してない) と *Sez12*-KO との交配マウス (ダブルヘテロマウス) を作成し、マウス個体および初代軟骨細胞での組織化学的解析を行った。ダブルヘテロマウスの頭蓋底軟骨結合は、ホモ型 *Sez12*-KO マウスと同程度の形成不全がみられたが、ヘテロ型 *Sez12*-KO マウスや *Df1* マウスではこのような所見は認められなかった。また初代軟骨細胞では、培養液に TGF- β 投与すると (終濃度 25 ng/ml), *Sez12*-KO 軟骨細胞ではノックイン GFP 発現上昇, TGF- β シグナル亢進, X 型コラーゲン陽性細胞の著しい減少とともに, II 型コラーゲン陽性細胞の相対的増加と線維芽細胞様の形態変化が認められた。これらの TGF- β による変化はダブルヘテロ初代軟骨細胞でも認められたが、ヘテロ型 *Sez12*-KO や *Df1* 変異の初代軟骨細胞では、ダブルヘテロ細胞での所見は認められなかった。以上の結果から DGCR2 遺伝子は、軟骨内骨化の細胞分化過程で TGF- β シグナルを抑制的に制御する役割が予想され、同様な遺伝子機能をもつ 22q11.2 領域内の遺伝子と協調して頭蓋底軟骨結合の形態形成を制御すると考えられる。そしてこれら協調した遺伝子機能のヘテロ型欠失が 22q11.2 欠失症候群の発症を引き起こすことが示唆される。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Expression characteristics of heterozygous *Dgcr2* gene in murine chondrocytes from 22q11.2 deletion syndrome model

○Kajiwara K

Dept Mol Sci, Tokai Univ Sch Med

The DGCR2 gene has been proposed to play a role in 22q11.2 deletion syndrome. To explore its function, we generated *Dgcr2*-knockout/eGFP-knocked-in mice (*Dgcr2*-KO mice, which showed skeletal hypoplasia after weaning significantly in maxillofacial region. The phenotypes include deviation of nasal septum, early malformations of basilar cartilage and differentiation defects of pre-hypertrophic chondrocytes. In the homozygous *Dgcr2*-KO primary chondrocytes treated with TGF- β , we found elevation of TGF- β signaling activity and obvious decrease in expression of type X collagen, compared to wild-type ones showing expression of both type II and type X collagen. However, these observations disappeared in heterozygous *Dgcr2*-KO primary chondrocytes. On the other hand, the primary chondrocytes with heterozygous mutants from both *Dgcr2*-KO and *Df1* mutant which heterozygously deletes a large genome region in mice corresponding to human 22q11.2 showed similar phenotype compared with the homozygous *Dgcr2*-KO cells. These results suggest that DGCR2 together with other gene(s) in 22q11.2 could regulate the TGF- β signaling activity for differentiation from replicative chondrocytes to hypertrophic ones after birth.

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

3-P2-P118 破骨細胞の骨吸収に及ぼす TGF- β の影響

○唐木田丈夫, 大熊理紗子, 山越 康雄

鶴大 歯 生化

骨基質中には大量のトランスフォーミング成長因子ベータ (TGF- β) が不活性型で蓄えられており, 破骨細胞による骨吸収によって放出・活性化される。活性化された TGF- β は骨芽細胞前駆細胞の遊走を促進することで骨量維持のカップリング因子として働いている可能性が報告されているが, 破骨細胞自身に与える影響はまだ明らかではない。また, TGF- β は RANKL 誘導性の破骨細胞分化を促進することが報告されているが, 破骨細胞の骨吸収作用に対する効果はまだ不明である。[目的] われわれは TGF- β の骨吸収に及ぼす効果を破骨細胞の分化段階の違いで検討することを目的とした。[材料・方法] マウスマクロファージ様細胞 RAW264 細胞を可溶性 RANKL と共に培養し, 1 日目を破骨細胞分化初期, 多核の破骨細胞が出現する培養 2 日目を分化中期, 細胞数が最大になる 3 日目を分化後期として, それぞれの期間に TGF- β (1 ng/mL) を添加してタイミングの違いによる影響を検討した。破骨細胞の骨吸収能の評価は, RAW264 細胞を可溶性 RANKL (300 ng/mL) と共にリン酸カルシウムコーティングしたプレート上で 4 日間培養し, 細胞が溶かしたリン酸カルシウムの面積を測定して行った。[結果および考察] TGF- β は RANKL 誘導性破骨細胞の骨吸収を促進したが, その強さは TGF- β 添加のタイミングによって差がみられた。培養初期の TGF- β 添加群は強い促進効果を示したが, 培養中期と培養後期の添加群には促進効果がみられなかった。また, TGF- β の添加期間を初期から中期または初期から後期まで延長すると, TGF- β の初期添加による促進効果が減少した。これらの結果から, 破骨細胞の骨吸収に対して TGF- β は分化初期には促進的に, 中期および後期では抑制的に作用しており, 添加時期によって二相性の作用を持つことが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effect of TGF- β on bone resorption of osteoclasts

○Karakida T, Chiba-Ohkuma R, Yamakoshi Y

Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Transforming growth factor-beta (TGF- β) released from the bone matrix by bone resorption is believed to act as a coupling factor for maintaining bone mass by acting on osteoblast progenitor cells. TGF- β is known to promote RANKL-induced osteoclast differentiation, but its effect on bone resorption is unknown. Our objective is to investigate the effect of TGF- β on bone resorption at different stages of osteoclast differentiation. [Methods] Macrophage-like RAW264 cells are cultured with soluble RANKL (300 ng/mL) on a calcium phosphate-coated plate. We defined the first day of culture as the early stage of osteoclast differentiation, the second day as the middle stage of differentiation (polynuclear osteoclasts appeared), and the third day as the late stage of differentiation (the number of cells is maximized). TGF- β (1 ng/mL) was added in each stage and the effect of different timing was examined. The bone resorption activity was evaluated by measuring the area of calcium phosphate dissolved by the cells. [Results and Discussion] The group added at the early stage of culture showed the strongest promoting effect, exceeding the group added for the entire period. It was suggested that TGF- β has a biphasic effect depending on the time of addition.

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

3-P2-P119 口腔インプラント周囲に出現する osteonal bone における骨の質的因子

○松永 智¹, 笠原 典夫², 北村 啓², 小川 雄大², 廣内 英智¹, 山本 仁²,
阿部 伸一¹

¹東歯大 解剖, ²東歯大 組織発生

【目的】インプラント周囲顎骨において新生されたオステオンが、本来の海綿骨領域に多く新生されることが確認されており、力学環境の変遷にともなって生じたと考えられる。しかし、通常骨の皮質骨とは異なる構造的特性を有しており、力学機能において不明な点が多く残されている。そこで本研究では、ヒトインプラント周囲顎骨の構造解析および骨質解析を行うことで、通常の緻密骨との相違を明らかにするとともに、力学環境との関連性について考察することを目的とした。【方法】口腔インプラントを有するヒト下顎骨から、インプラント体を含む試料を採取した。マイクロCT撮像後、100マイクロメートル厚の研磨標本を作製してインプラント周囲骨におけるオステオンの形態解析を行った。さらに骨質解析として、生体アパタイト (BAp) 結晶の配向性の解析とともに、コラーゲン線維束の走行異方性解析を行った。【結果】インプラント体周囲において、本来の海綿骨領域に多数出現したオステオンは、インプラント体近傍においてインプラント体軸方向に平行に、その外側では近遠心方向への走行異方性が認められた。BAp 結晶の配向は、下顎体下縁部において近遠心方向への一軸優先配向が認められたが、インプラント体周囲ではオステオンの走行方向への優先配向を確認した。一方コラーゲン線維の走行は、リモデリングを重ねて構築されたオステオンには同心円状に走行するコラーゲン線維に加えて全周にわたり直交する線維が多く確認された。【考察】インプラント周囲において活発なリモデリングの結果形成された骨組織は皮質骨様構造を呈するものの、下顎下縁部とは異なる骨の質的因子を有しており、インプラントを介して加わる負荷を緩衝していくうちに、生体力学的に最適化され新しい恒常性が構築されたことが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Bone quality of peri-implant osteonal bone

○Matsunaga S¹, Kasahara N², Kitamura K², Ogawa Y², Hirouchi H¹, Yamamoto H², Abe S¹

¹Dept Anat, Tokyo Dent Coll, ²Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll

The aim of this study was to clarify the structural characteristics of peri-implant jaw bone on the micro- and nano-scales by quantitatively evaluating bone quality. We collected human mandibular bone containing dental implants. Bulk staining was performed and 100- μ m-thick polished specimens were prepared. The osteon distributions in peri-implant bone and mandibular cortical bone were measured, after which alignment analysis of biological apatite (BAp) crystallites and anisotropy analysis of collagen fiber orientation using second-harmonic generation imaging were carried out. Osteons in the vicinity of the implant body ran parallel to it. In the cortical bone at the base of the mandible, however, most osteons were oriented mesiodistally. The preferential alignment of BAp crystallites was generally consistent with osteon orientation. The orientation of collagen fibers in peri-implant jaw bone resembled the concentric rings seen in normal cortical bone, but there were also fibers that ran orthogonally across these concentric fibers. These results suggested that the mechanical strain imposed by implants causes the growth of cortical bone-like bone in areas that would normally consist of cancellous bone around the implants, and that its structural characteristics are optimized for the load environment of the peri-implant jaw bone.

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

3-P2-P120 RNA-sequencing を用いた骨細胞におけるメカニカルストレス応答機構の解析

○藤田 尚正^{1,2}, 田村-辻 潔美², 田村 正人², 佐藤 真理²

¹北大 院歯 麻酔, ²北大 院歯 口腔分子生化

[背景-目的]骨組織においてメカニカルストレスは、骨のリモデリングを制御し、骨量維持に寄与することが知られている。我々は以前、骨細胞様細胞(MLO-Y4)、Medaka, Zebrafishを用いた研究により、メカニカルストレスの一つである低出力超音波パルス(LIPUS)刺激が骨細胞に作用し、転写因子を制御することで骨折治癒を促進することを示した。この研究を発展させ、生体内での骨細胞によるメカニカルストレス応答機構を明らかにするために、運動刺激を加えたマウスおよびLIPUS刺激を加えたMLO-Y4を用いて本研究を行った。[方法]6週齢のマウスを6週間運動させ、大腿骨からRNAを抽出した。MLO-Y4をLIPUS刺激し、RNAを抽出した。これらに対しmRNA-Seqを行い発現変動遺伝子(DEGs)を検索し、解析ツールR、DAVIDを用いて可視化とCluster解析およびpathway解析を行った。[結果]大腿骨およびMLO-Y4のDEGsはそれぞれ146個、179個だった。これらをClusteringすると、大腿骨ではextracellular region, proteinaceous extracellular matrix, Thyroglobulin type-1, MLO-Y4ではDefense response to virus, proteinaceous extracellular matrix, cellular response to interferonが上位だった。共通していたものはproteinaceous extracellular matrix, extracellular region, IGFBPsだった。また共通するDEGsはPim1, Ccn1, Fmod, Fabp4だった。[考察]メカニカルストレスにより骨細胞では、extracellular region, proteinaceous extracellular matrixに関わる遺伝子が多く変動していた。運動刺激およびLIPUS刺激で挙動が一致したものはCcn1だけだった。Ccn1は細胞外分泌タンパク質であり、様々な組織で増殖、分化、血管新生の促進に関与することが知られ、骨組織では骨量を調節することが示唆されている。このことから、メカニカルストレスにより骨細胞がCcn1を分泌することで骨のリモデリングや骨量の維持に関与している可能性がある。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Regulatory mechanism of osteocytes in response to mechanical stress

○Fujita N^{1,2}, Tsuji-Tamura K², Tamura M², Sato M²

¹Dept Dent Anesthesiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ²Dept Oral Biochem Mol Biol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

[Objective] Mechanical stress in skeletal tissues is known to regulate bone remodeling and bone mass maintenance. However, we have still unevaluated the change of molecular signaling caused by mechanical stress in mammalian osteocytes. We performed RNA-sequencing analysis by use of a type of mechanical stress, Low Intensity Pulsed Ultra Sound (LIPUS) stimulated murine osteocytes and bone tissues derived from chronic forced exercise mouse model. [Methods] Femoral bone was extracted from mice that were forced to run for 6 weeks. Murine long bone osteocyte Y4 (MLO-Y4) cells were stimulated for 20 min with LIPUS. These samples were applied to RNA-sequencing and the transcriptomes were determined. We performed cluster and pathway analysis of these genes. [Results] In bone tissues, top three clusters were Extracellular region, Proteinaceous extracellular matrix, and Thyroglobulin type-1. In MLO-Y4 cells, top three clusters were Defense response to virus, Proteinaceous extracellular matrix, and Cellular response to interferon. We compared LIPUS-responsive and exercise-responsive genes and isolated common stress-responsive genes such as Pim1, Ccn1, Fmod, and Fabp4. [Conclusion] Since Ccn1 expression was upregulated by mechanical stimuli in murine bone tissues and osteocytes, Ccn1 is considered as powerful candidate gene responded to mechanical stress in osteocytes to regulate bone maintenance and remodeling.

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

3-P2-P121 CGRP は破骨細胞分化を抑制する転写因子である Bcl6 および MafB の発現上昇を介して破骨細胞分化を抑制する

○石塚 恭子

愛院大 歯 薬理

【目的】 感覚神経由来のニューロペプチドであるカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) は、破骨細胞分化を抑制することが知られている。近年、NFATc1 が制御する転写抑制因子である Blimp1 は、破骨細胞前駆細胞に発現する破骨細胞分化抑制因子 (Bcl6, IRF8 および MafB) の発現を抑制し、破骨細胞分化を促進することが示された。一方、Bcl6, IRF8 および MafB は、NFATc1 の転写活性を抑制し、破骨細胞分化を抑制することも示された。この正と負の制御バランスが破骨細胞分化ならびに骨の恒常性維持において重要である。そこで、本研究では CGRP が破骨細胞分化抑制因子に及ぼす影響について検討した。

【方法】 RAW264.7 細胞に RANKL および CGRP を添加し、24~72 時間培養した。培養後、定量的 PCR 法により NFATc1, Blimp1, Bcl6, IRF8 および MafB の mRNA 発現変動を解析した。また、Blimp1 をノックダウンした RAW264.7 細胞において、CGRP の破骨細胞分化抑制効果に対する Blimp1 の関与について検討した。

【結果】 RAW264.7 細胞において、培養 48 時間後、CGRP は RANKL により誘導された NFATc1 および Blimp1 の mRNA 発現を有意に抑制した。また、RANKL により減少した Bcl6, IRF8 および MafB の mRNA 発現は CGRP により有意に増加した。さらに、CGRP を単独で添加したところ、Bcl6 および MafB の mRNA 発現は培養 2~24 時間の間で顕著に増加した。Blimp1 をノックダウンした RAW264.7 細胞では、RANKL は NFATc1 の mRNA 発現を誘導し、その効果は CGRP により抑制されなかった。

【考察】 CGRP は Bcl6 および MafB の発現を増加させることにより NFATc1 の発現を抑制し、破骨細胞分化を抑制することが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

CGRP inhibits osteoclast differentiation through induction of Bcl6 and MafB negative regulators of osteoclast differentiation

○Ishizuka K

Div Pharmacol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent

Calcitonin gene-related peptide (CGRP) is known to inhibit osteoclast differentiation. It has been shown that the transcriptional repressors Blimp1 induced by NFATc1 represses the expression of Bcl6, IRF8, and MafB (negative regulators of osteoclast differentiation), and also promotes osteoclast differentiation. These negative regulators repress the transcriptional activity of NFATc1 and inhibit osteoclast differentiation. The balance between osteoclast-positive and negative regulators is crucial for maintaining bone homeostasis. Therefore, I examined the effects of CGRP on the negative regulators.

RAW264.7 cells were cultured with RANKL and CGRP, and then the expressions of osteoclast-related genes were subjected to real-time PCR. RNA interference with siRNA specific to Blimp1 was employed to examine the involvement of Blimp1 in the inhibitory effect of CGRP on osteoclast differentiation.

In RAW264.7 cells at 48-hour incubation, CGRP significantly reduced the RANKL-induced NFATc1 and Blimp1 mRNA expressions. However, CGRP significantly increased Bcl6, IRF8, and MafB mRNA expressions which were decreased by RANKL. At 2- to 24-hour incubation, CGRP treatment alone significantly increased Bcl6 and MafB mRNA expressions. In Blimp1 knockdown cells, RANKL induced NFATc1 mRNA expression, and this effect was not inhibited by CGRP.

These results suggest that CGRP inhibits osteoclast differentiation through downregulating NFATc1 by inducing Bcl6 and MafB.

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

3-P2-P122 骨芽細胞分化における Hypoxia が及ぼす影響の解析

○千葉 紀香¹, 成 昌奂², 大西 智和¹, 松口 徹也¹

¹鹿大 院医歯 口腔生化, ²鹿大 院医歯 顎顔面外科

培養細胞を用いた研究は、通常は大気の酸素分圧下 (Normoxia, 約 20%) で行われるが、実際の生体内での細胞周辺環境は基本的に著しい低酸素状態 (Hypoxia, 骨組織では 8% 以下) にある。マウス個体を hypoxia の環境で飼養すると骨梁が有意に減少することや、取り出した骨芽細胞による石灰化能が低下するなどの報告があり、酸素環境の違いが骨芽細胞の分化や機能に影響を及ぼすと考えられるが、その現象における分子生物学的な詳細については未だ明確な知見が得られていない。本研究では、酸素濃度の違いが骨芽細胞の分化や石灰化誘導能に及ぼす影響を in vitro を主体として分子生物学的に比較検討し、将来的には骨再生医療における効果的な促進ファクターの同定を目的としている。まず、マウス前骨芽細胞株である MC3T3-E1 をそれぞれ normoxia (20% O₂) と hypoxia (2% O₂) の環境下で骨芽細胞分化培地 (ODM) にて一定期間培養を行い、分化に伴う骨分化マーカー遺伝子の発現量の違い (リアルタイム PCR やウエスタンブロッティング) や、石灰化誘導能の差 (アリザリンレッド染色) などを比較した。石灰化誘導能については、normoxia では ODM によって誘導される高度な石灰化が観察されたが、hypoxia では顕著な低下が確認された。骨分化マーカー遺伝子の発現量は、Runx2 や Alpl, Bglap, Spp1 などは hypoxia によって発現の低下がみられたが、一方で Sp7 や IBSP などは発現の上昇がみられた。骨芽細胞による石灰化自体は hypoxia によって低下しており、骨芽細胞分化の特に初期段階に重要なマーカー遺伝子の発現も抑制を受けることが分かったが、一方で分化の後期段階に重要とされる Sp7 や IBSP はその発現の増強がみられており、骨芽細胞の分化段階によって酸素濃度が異なる影響を与える可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Hypoxia affects osteoblast differentiation

○Chiba N¹, Seong C², Ohnishi T¹, Matsuguchi T¹

¹Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Dept Oral Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

In general, cell culture experiments are usually conducted under normoxia (normal oxygen level, 20% O₂), whereas most cells in the body are actually under hypoxia (low oxygen level, 8% or less in bone tissues). It has been reported that trabecular bone volume reduced in mice exposed to hypoxia for a certain time, so it is likely that microenvironmental oxygen concentration would be an important factor for osteoblast differentiation. Although several reports showed that oxygen levels affect osteoblast differentiation, molecular details of the effect of hypoxia on osteoblast differentiation still need further investigation. In this study, we examined effects of hypoxia on osteoblast differentiation and matrix mineralization in comparison to normoxia. Osteoblast differentiation medium-induced matrix mineralization of MC3T3-E1 cells under hypoxia was significantly reduced compared with normoxia. The mRNA levels of Runx2, Alpl, Bglap and Spp1 were decreased in hypoxia compared with normoxia. Unexpectedly, Sp7 and IBSP mRNA levels were increased in hypoxia more than in normoxia. Thus, effect of hypoxia on osteoblast differentiation may depend on the stage of osteoblast differentiation.

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

3-P2-P123 Annexin A5 ノックアウトマウスは咬合力誘導性の骨増大, エナメル質咬耗ならびに咬筋肥大を示す

○出野 尚¹, 望月 文子², 小松浩一郎¹, 中島 和久¹, 雨宮 俊彦³, 新井 嘉則³,
井上 富雄², 二藤 彰¹

¹鶴大 歯 薬理, ²昭大 歯 口腔生理, ³日大 歯 放射線

カルシウム依存性リン脂質結合タンパク質であるアネキシンファミリーの1つである Annexin a5 (Anxa5) は, 石灰化, 力学的刺激応答や細胞膜修復に関わる機能を持つことが示唆されている. 我々はこれまで Anxa5 が, 筋骨格における腱・靭帯骨付着部 (enthesis) に発現し, 筋張力誘導性の entheses の石灰化を負に制御している可能性を示した. Anxa5 が頭蓋の腱付着部や歯根膜組織にも発現が認められることから, 今回 Anxa5-欠損 (Anxa5KO) マウスを用い顎口腔硬組織における機能を検討した. Anxa5KO マウスは全身骨格と同様, 生後4週までは骨・歯に野生型と差が認められないが, 生後16週を過ぎると咬筋付着部の石灰化部分の膨隆と上顎臼歯部口蓋部の骨の膨隆が顕著に認められた. さらに, 臼歯エナメル質の咬耗が過大になり, また咬筋の肥大が観察された. 次に, これらの変化には臼歯部咬合力が関与すると仮説をたて, 片側の下顎臼歯を破碎し咬合力の影響を除去する実験をおこなったところ, 非咬合側の咬筋付着部石灰化領域, 臼歯部口蓋部の骨の膨隆が減少していた. これらのことから, Anxa5 は, 過大な咬合力に伴う骨ならびに腱付着部の増大, エナメル質の咬耗を抑制的に制御し, 顎口腔硬組織の維持に必須である可能性が示唆された.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

Anxa5 KO mice show jaw bone overgrowth, excessive tooth attrition and masseter muscles hypertrophy

○Ideno H¹, Mochizuki A², Komatsu K¹, Nakashima K¹, Amemiya T³, Arai Y³, Inoue T²,
Nifuji A¹

¹Dept Pharmacol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ²Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent, ³Dept Oral Maxillofac Radiol, Nihon Univ Sch Dent

Annexin a5 is a multi-functional calcium binding protein. Anxa5 is expressed in the junctional regions of different tissues such as entheses, and periodontal tissue. We previously showed that Anxa5 regulates bone overgrowth at the entheses of long bones. Here we examined if Anxa5 is involved in the maintenance of tooth and jaw function. In Anxa5-deficient (Anxa5 KO) mice, Anxa5 KO mice showed accelerated tooth attrition, and bone outgrowth of the jaw. Further the jaw closing muscle, masseter muscle, showed enlarged muscle mass, suggesting that overloading of biting force is involved in oro-facial phenotypes of Anxa5 KO mice. We performed unilateral biting force free experiments by breaking down mandibular molar tooth. The enhanced tooth attrition and bone overgrowth of maxilla in KO mice was suppressed when biting force was freed. Thus it suggests that Annexin a5 is involved in the maintenance of function and morphology of tooth and jaw bones through biting force.

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

3-P2-P124 マウス脛骨骨端板軟骨の septoclast における integrin $\alpha 2$ の局在

○坂東 康彦¹, 小野澤 豪^{1,2}, 長坂 新¹, 崎山 浩司¹, 天野 修¹

¹明海大 歯 解剖, ²明海大 歯 口腔顎顔面外科

【目的】 septoclast は長管骨骨端板骨軟骨境界部で成長性の毛細血管に隣接して存在する単核・紡錘形の細胞で、非石灰化軟骨基質である横隔に突起を伸ばしその吸収に参与する。我々はこれまでに、septoclast が表皮型脂肪酸結合タンパク (E-FABP) を特異的に発現し、pericyte に由来することを示した。pericyte に軟骨基質の成分である II 型と X 型 collagen に接着する integrin $\alpha 2\beta 1$ が発現するという報告があることから今回我々は septoclast と pericyte における integrin $\alpha 2$ の局在を調べ、軟骨基質との関連について考察した。【方法】生後 2-3 週齢の ddY マウス膝関節矢状断の凍結切片を作成し免疫組織化学的染色を行った。septoclast のマーカーとして抗 E-FABP 抗体 (東北大学大和田祐二教授供与)、septoclast と pericyte のマーカーとして抗 PDGFR β 抗体を用い、抗 integrin $\alpha 2$ 抗体との蛍光二重染色を行い共焦点レーザー顕微鏡により観察した。抗 PDGFR β 抗体と抗 II 型および X 型 collagen 抗体との二重染色を行い septoclast/pericyte と II 型および X 型 collagen との関連を調べた。また、透過型電子顕微鏡を用いて septoclast と軟骨基質の関係を観察した。【結果と考察】 integrin $\alpha 2$ の局在は septoclast に見られたが、pericyte には見られなかった。骨軟骨境界部の骨端板において X 型 collagen は骨端板の横隔と縦隔ともに強い免疫陽性反応が見られ septoclast の突起の先端が X 型 collagen と接するのが観察された。II 型 collagen は縦隔に弱い免疫陽性反応がみられた。電子顕微鏡による観察から septoclast の突起の先端の微絨毛が横隔に進入し、細胞体からは短い突起が縦隔に接しているのが観察された。以上の結果から septoclast における integrin $\alpha 2\beta 1$ の局在が septoclast と骨端板軟骨基質の接触に参与していることが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Localization of integrin alpha 2 in septoclasts in mouse tibial epiphyseal plates

○Bando Y¹, Onozawa G^{1,2}, Nagasaka A¹, Sakiyama K¹, Amano O¹

¹Div Anat, Meikai Univ Sch Dent, ²Div Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch Dent

We previously reported that septoclasts originate from pericytes and express epidermal-type fatty acid-binding protein (E-FABP) exclusively at the chondro-osseous junction of the epiphyseal plate of mice. In this study, we investigated localization of integrin which binds type II and X collagen immunohistochemically in septoclasts and pericytes. Frozen sections of the epiphyseal plate of the proximal tibiae of P2-3w ddY mice were applied for immunohistochemistry. Anti-integrin 2, anti-E-FABP, and anti-PDGFR antibodies were used to detect integrin, septoclasts, and septoclasts and pericytes, respectively. Integrin2 was localized in septoclasts but pericytes lacked its expression. Intense immunoreactivity of collagen X was observed in both longitudinal and transverse septa, while weak one of collagen II was detected in longitudinal septa. Electron microscopic observations showed that microvilli at the apex of long septoclastic process penetrated into the transverse septum and that short processes sprouting out from septoclastic body adhered to the longitudinal septum. Present results suggest that localization of integrin is associated with contact between septoclasts and cartilage matrix in the epiphysial plate.

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

3-P2-P125 急速上顎拡大が鼻閉感に与える影響の臨床学的検討

○中村 千織^{1,2}, 末光 正昌³, 田口千恵子⁴, 中山 光子³, 久山 佳代³

¹日大院松戸 口腔病理, ²医療法人社団千旺会 ちおり歯科, ³日大松戸歯 病理, ⁴日大松戸歯 衛生

【緒言】近年、歯列不正を主訴として矯正治療を希望される患者に急速上顎拡大（Rapid Maxillary Expansion:以下 RME）が使用される症例が増えてきている。RME は、上顎骨の縫合の離開により骨格の形態を改善させる目的で使用される。また、矯正治療を希望される患者の中には通年での鼻閉感やいびきを気にされている患者も多く、RME による骨格形態の変化に伴い、それらや種々の機能改善が生じるとされる。鼻腔通気度検査は矯正治療における機能分析の1つで、鼻腔通気度を客観的に評価することができる。そこで、本研究の目的は、RME によって生じる鼻閉感の変化を鼻腔通気度とアンケート調査で評価し、相互関係を明らかにすることである。【対象および方法】対象は、RME を用いた矯正治療を行った患者 20 人（平均年齢 7.7 歳）である。RME には、hyrax7~12 mm（DENTAURUM 社、ドイツ）を用い、一定のスピード（1日1回転；90度の回転で0.2 mm 拡大）で拡大した。「拡大終了」はこの装置が全て回しきった状態とした。測定時期は、治療開始時と拡大終了時とし、鼻腔通気度（HI-801、チェスト株式会社、東京）とアンケート調査を行った。【結果】鼻腔通気度の 100IN、100EX の平均値は治療開始時から拡大と共に変化を認めた。アンケート調査では治療開始時に鼻閉感やいびきなどの症状がある患者において、早い段階での症状改善の自覚が認められた。【今後の展望】RME による治療の直後から鼻腔通気や呼吸・睡眠について患者が自覚可能な効果を得られる場合がある。鼻閉感は、鼻腔通気度の値と概ね一致する傾向にある。臨床にて、RME による形態変化のみならず鼻腔通気度が改善される症例が多く見受けられ、今後は本研究を通して、長期的な経過を臨床学的に検討し、鼻腔や口腔の状態やそれらの関係性を明らかにする予定である。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

A Clinical Study of the Effect of Rapid Maxillary Expansion on Nasal obstruction

○Nakamura C^{1,2}, Suemitsu M³, Taguchi C⁴, Nakayama M³, Kuyama K³

¹Dept Oral Pathol, Nihon Univ Grad Sch Dent at Matsudo, ²Chiori Dent Clinic, ³Dept Oral Pathol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ⁴Dept Microbiol & Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

In recent years, Rapid Maxillary Expansion (RME) has been increasingly used in patients who seek orthodontic treatment for malalignment. RME is used to improve skeletal morphology on the maxilla. The rhinomanometry is one of the functional analyses in orthodontic treatment, and it can objectively evaluate the nasal flow. Therefore, the purpose of this study is to evaluate the changes in nasal obstruction caused by RME using nasal flow and the questionnaire survey, and to clarify the interrelationships. The subjects were 20 patients with mean age of 7.7 years who seek orthodontic treatment using RME at the medical corporation Chiori Dental Clinic. For RME, hyrax7~12 mm (DENTAURUM, Germany) was used. It was enlarged at a constant speed (1rotation per day; 0.2 mm expansion at 90-degree rotation). The measurement periods were the start of treatment and the end of expansion. The Rhinomanometry and the questionnaire survey were performed. The mean values of 100IN and 100EX of nasal flow changed from the start of treatment to after the expansion. The questionnaire survey showed that patients with symptoms such as nasal obstruction and snoring at the start of treatment were aware of the improvement in symptoms at an early stage.

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

3-P2-P126 レニン-アンジオテンシン系が歯周病菌由来 LPS による心筋線維化に及ぼす影響

○清本 賢一¹, 吹田 憲治², 大貫 芳樹², 松尾 一朗¹, 角田 通則¹, 森井 彰伸¹,
伊藤 愛子³, 石川美紗緒⁴, 奥村 敏², 五味 一博¹

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

【目的】レニン-アンジオテンシン系 (RAS) の慢性的な活性化は心筋線維化, それに伴う心機能低下を誘発することが示されており, RAS の活性化を抑制する ACE (Angiotensin Converting Enzyme) 阻害薬であるカプトプリル (Cap) は, 心疾患治療薬として広く使用されている. 一方, 歯周病の進行による慢性的なストレスが交感神経系を刺激し, RAS を活性化することが臨床研究で示されている. これらの背景から歯周病が RAS を刺激することによって心筋線維化が引き起こされ, 心機能が低下するという仮説を立てた. 本研究では *Porphyromonas gingivalis* (PG) 由来リポポリサッカライド (PG-LPS) をマウスに少量持続投与することにより歯周病モデルマウスを作製し, Cap を併用投与することによって仮説の検討を行った. 【方法】雄性マウス (C57BL6/J, 12 週齢) を用いて PBS 投与群 (Control 群), PG-LPS 投与群 (0.8 mg/kg/day, ip), Cap 投与群 (0.1 mg/ml 飲水投与), PG-LPS + Cap 投与群を作成した. 実験開始一週後に心エコーにて心機能 (左室駆出率, 左室内径短縮率) を測定した. その後, 心筋線維化領域を Masson-Trichrome 染色を用いて定量的に評価した. 【結果】1) 左室駆出率及び左室内径短縮率は PG-LPS 投与群では Control 群に比較して有意に低下したが, Cap 併用投与群ではその効果は有意に抑制された. 2) 心筋線維化領域は PG-LPS 投与群では Control 群に比較して有意に増加した (Control (n=6) vs. PG-LPS (n=7): 0.67±0.16 vs. 2.0±0.55%, P<0.001) が, Cap 併用投与群の線維化は有意に抑制された (0.84±0.21% vs. PG-LPS, P<0.05, n=6). 【結論】歯周病に起因する心筋線維化において RAS の重要性が示唆された.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

Role of renin-angiotensin system for the development of cardiac fibrosis induced by periodontopathic bacteria LPS

○Kiyomoto K¹, Suita K², Oonuki Y², Matsuo I¹, Tsunoda M¹, Morii A¹, Itou A³,
Ishikawa M⁴, Okumura S², Gomi K¹

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

Periodontitis (PD) was known as a risk factor for cardiovascular disease (CVD) and was recently demonstrated to cause CVD through the activation of sympathetic nerve activity. In addition, renin-angiotensin system (RAS) causes cardiac fibrosis and cardiac dysfunction via activation of sympathetic nerve activity. *Porphyromonas gingivalis* (PG) is a gram-negative bacterial pathogen often identified in PD, and systemic exposure to pro-inflammatory factors from PG, including lipopolysaccharide (LPS) may contribute CVD. We thus hypothesized that *Porphyromonas gingivalis* LPS (PG-LPS) may activate RAS and contribute cardiac dysfunction. Therefore, in this study, we evaluated cardiac dysfunction in mice treated with PG-LPS at a dose equivalent to the circulating level in PD patients with/without RAS inhibitor captopril (Cap). Mice were divided into 4 groups: 1) Control, 2) PG-LPS (0.8 mg/kg/day ip for 7 days), 3) Cap (via drinking water containing 0.1 mg/ml), 4) Cap + PG-LPS. Cardiac function evaluated by echocardiography was significantly decreased in PG-LPS-treated mice (P < 0.001), which was abolished by Cap. In addition, cardiac fibrosis as evaluated by Masson-trichrome staining was significantly increased in PG-LPS-treated mice (P < 0.001), which was again abolished by Cap. These data suggest that PG-LPS might cause cardiac fibrosis and cardiac dysfunction via activation of RAS.

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

3-P2-P127 筋の壊死と再生に対する HMGB1 の働き

○崎山 浩司¹, 小野澤 豪^{1,2}, 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 1

【目的】 High mobility group box 1 (HMGB1) は、細胞の核内に存在するタンパク質で生体の恒常性の維持に関与していることが知られている。我々はこれまでマウスの舌に癌細胞を移植した際に、舌癌周囲の筋に与える影響について検索を行った。その結果、癌細胞と癌細胞周囲の壊死した筋細胞だけでなく遠位の筋線維においても HMGB1 が強く発現することを確認した。また一方で、癌細胞によって筋線維が一度破壊された部位では筋が再生してくるが、再生した筋線維およびその領域で HMGB1 の発現が認められた。このことから HMGB1 は筋の再生にも関与するのではないかと示唆された。【方法】 試料は 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。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 抗体および筋再生初期にみられる抗 MyoD 抗体と筋衛星細胞のマーカーである抗 PAX7 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行い観察した。【結果および考察】 すべての週齢に壊死した筋線維が確認された。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。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。特に癌細胞から離れた部位では、筋発生初期にみられる MyoD や再生時にみられる Pax7 の存在を確認したことから、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。以上のことより、壊死だけでなく再生においても HMGB1 は関与するのではないかと示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Roles of high mobility group box 1 (HMGB1) in the necrosis and regeneration of myofibers

○Sakiyama K¹, Onozawa G^{1,2}, Nagasaka A¹, Bando Y¹, Amano O¹

¹Div Anat, Meikai Univ Sch Dent, ²Div First Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch Dent

High mobility group box 1 (HMGB1) is present in the nucleus of all normal cells and is participated in the maintenance of homeostasis. We investigated the localization of HMGB1 in the carcinoma and myofibers adjacent and distal to the carcinoma. Furthermore, HMGB1 is expressed in regenerating myofibers where myofibers are destroyed by the carcinoma. The aim of this study is to clarify roles of HMGB1 in the process of myofibers regeneration. 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. Anti-HMGB1, Anti-RAGE (receptor for advanced glycosylation endproducts), Anti-Pax7; the marker of muscle satellite cells, and Anti-MyoD antibodies were applied for immunohistochemistry. HMGB1-expression without RAGE-immunoreaction was observed around the regenerating muscle fibers. Further, MyoD and Pax7 were expressed in regenerating myofibers. Therefore, HMGB1 was suggested to induce regeneration of myofibers.

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

3-P2-P128 *Mitf* 遺伝子変異は酸化ストレスにより咬筋組織リモデリングを誘導する

○成山明具美¹, 大貫 芳樹², 吹田 憲治², 伊藤 愛子³, 石川美佐緒⁴, 松尾 一朗⁵,
早川 佳男⁶, 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】これまで我々は、小眼球症関連転写調節因子 *Mitf* (*Microphthalmia-associated transcription factor*) 遺伝子の変異が咬筋において、肥大や線維化、アポトーシスなどの組織リモデリングを誘導することを報告してきた。一方、酸化ストレスは、生体内において DNA 変異、蛋白質の変性、酵素の失活をもたらし、生体酸化損傷を増加させ、組織リモデリングを伴う様々な疾患や老化亢進につながると考えられている。そこで、今回我々は、*mitf* 遺伝子変異型マウス (*mi/mi*) を用いて、この変異が咬筋の酸化ストレスに及ぼす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, アポトーシスおよび酸化ストレ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, 酸化ストレス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。さらに、*mi/mi* 咬筋では WT と比較し、酸化ストレスのマーカーである 8-OHdG 陽性細胞の割合は有意に増加した。加えて、酸化ストレスのシグナル因子である Nox2 およびカルボニル化タンパクは、WT と比較し、*mi/mi* では有意に増加した。【結論】以上の結果から、*mitf* 変異は骨格筋 (咬筋) の組織リモデリング (筋萎, 線維化, アポトーシス) を誘導し、そのメカニズムの 1 つとして酸化ストレスの上昇が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

Role of microphthalmia-associated transcription factor on oxidative stress in masseter muscle

○Nariyama M¹, Ohnuki Y², Suita K², Ito A³, Ishikawa M⁴, Matsuo I⁵, Hayakawa Y⁶,
Asada Y¹, Okumura S²

¹Dept Pediatr, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ²Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁴Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁵Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁶Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Microphthalmia-associated transcription factor (MITF) is known to play an important role for the development of cardiac hypertrophy, fibrosis and apoptosis in response to chronic catecholamine stress. However, the role of MITF in masseter muscle (MA) remains poorly understood. In order to clarify the role of MITF on MA, we examined the effects of *mitf* mutation on muscle fibrosis, myocyte apoptosis, myocyte oxidative DNA damage, 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. 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 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine. In addition, expressions of Nox2 and oxidized proteins were significantly greater in *mi/mi* than in WT. These results suggest that MA remodeling in *mi/mi* might be induced through the oxidative stress.

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

3-P2-P129 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筋のアポトーシスを引き起こす

○伊藤 愛子¹, 大貫 芳樹², 吹田 憲治², 石川美佐緒³, 松尾 一朗⁴, 早川 佳男⁵,
成山明具美⁶, 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, ⁶鶴大 歯 小児歯

【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、歯科用レジンを用いたマウス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筋のアポトーシスを予防する」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 (0.1 g/L を含む飲料水), Cpt + BO 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。組織学的解析として、線維化領域の計測のため、Masson trichrome 染色、アポトーシスの割合の計測のため、TUNEL 染色を行った。【結果】心肥大の程度 (心筋重量 (mg)/脛骨長 (mm)) は、有意差が観察されなかった。心エコーを用いて心機能を評価したところ、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。Masson trichrome 染色において、線維化の割合は、BO 群で有意に増加 (Control vs. BO 1.12 ± 0.55 vs. 3.56 ± 0.64%, P < 0.01, n=4) し、BO + Cpt 群では、その効果が抑制された。TUNEL 染色におけるアポトーシスの割合も BO 群で有意に増加 (Control vs. BO 0.01 ± 0.11 vs. 5.31 ± 1.04%, P < 0.01, n=6) し、BO + Cpt 群ではその効果が抑制された。【結論】以上の結果より、BO による心筋のアポトーシスは 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】利益相反状態にはありません。

Occlusal anomalies myocardial apoptosis by the renin-angiotensin system

○Ito A¹, Ohnuki Y², Suita K², Ishikawa M³, Matsuo I⁴, Hayakawa Y⁵, Nariyama M⁶,
Tomonari H¹, Okumura S²

¹Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ²Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁴Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁵Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁶Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med

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 0.1 g/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. In Masson trichrome staining, the rate of fibrosis was significantly increased in the BO group, and its effect was suppressed in the BO + Cpt group (Control vs. BO 1.12 ± 0.55 vs. 3.56 ± 0.64%, P < 0.01, n = 4 each). The rate of apoptosis in TUNEL staining was also significantly increased in the BO group, and its effect was suppressed in the BO + Cpt group (Control vs. BO 0.01 ± 0.11 vs. 5.31 ± 1.04%, P < 0.01, n = 6 each). These results suggest that BO-mediated stress might induce cardiac apoptosis through the activation of RAS.

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

3-P2-P130 口唇形成術にて考慮する必要のある動静脈吻合

○山本 将仁¹, 高木 貴博¹, 山本悠太郎¹, 廣内 英智¹, 崎山 浩司², 阿部 伸一¹

¹東歯大 解剖, ²明海大 解剖

唇顎口蓋裂の治療は生後まもなくして開始し長期間を要することが知られているが、口唇形成術後の審美的な問題は未だ解決に至っていない。近年、新生血管の内皮細胞が創傷の治療において重要であることが分かってきた。それ故に、上唇の血管再建を行うことが、術後の創傷治癒を促進させる可能性がある。しかしながら、上唇を走行する動静脈の位置的な相互関係については不明な点が残されている。そこで本研究では、上唇を走行する脈管の走行について検索し、口唇形成術終了後の創傷の治療との関係について考察することとした。試料として東京歯科大学とスペインコンプルテンス大学の倫理委員会から承認を得た成人献体と胎児標本を用いた。各献体から上唇を採取後、通法にしたがいパラフィン包埋を行い5 μmにて連続切片を作製した。また、成人献体から採取した一部の上唇を用いて、血管に造影剤を注入後、マイクロコンピューター断層撮影(micro-CT)をおこなった。成人献体において、上唇静脈は口輪筋を境として皮膚側に走行しており、上唇動脈は粘膜側を走行していた。Micro-CTの結果から、成人献体の55%において、粘膜側の上唇動脈は口輪筋を貫いた後に、皮膚側の上唇静脈に吻合することが明らかになった。一方ヒト胎児の検索結果は、成人の結果と類似しており、粘膜側の上唇動脈は皮膚側の上唇静脈と吻合していた。しかしながら、胎生期における動静脈吻合はすべての胎児で認められた。以上の結果から、口唇形成術をおこなう生後4-6か月の上唇には動静脈吻合が残っている可能性が高く、術中の血管再建は術後の審美性を考慮すると極めて重要であることが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Superior labial artery and vein anastomosis configuration to be considered in lip augmentation

○Yamamoto M¹, Takagi T¹, Yamamoto Y¹, Hirouchi H¹, Sakiyama K², Abe S¹

¹Dept Anat, Tokyo Dent Coll, ²Div Anat, Meikai Univ

The treatment of cleft lip and palate is performed over a long period, starting immediately after birth. However, esthetic problems remain after lip augmentation. Endothelial cells of new capillaries are important for wound healing. Thus, the reconstruction of vascular networks is key to postoperative wound healing during lip augmentation. However, studies describing the superior labial artery (SLA) and superior labial vein (SLV) are rare, and their mutual positional relationship thus remains unclear. We procured adult cadavers and fetuses. We performed histological investigations of vascular networks within the cleft lip in fetal samples. In adults, the SLV was distributed throughout the cutaneous side of the orbicularis oris muscle and the SLA, throughout the mucosal side. Micro-CT images revealed that the SLA on the mucosal side transversed the orbicularis oris muscle to the SLV (55%). Histological analysis of fetuses revealed that the SLA was on the mucosal side, similar to that in adults, and traversed the orbicularis oris muscle in continuity with the SLV of the cutaneous side (100%). In lip augmentation, the reconstruction of the vascular structure, which involves the anastomosis of SLA and SLV passing through the orbicularis oris muscle, is an important factor when considering esthetic repair.

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

3-P2-P131 炭酸アパタイト系人工骨を用いた歯槽骨再生時の微小循環への影響

○東 雅啓, 松尾まりあ, 劉 宇豪, 松尾 雅斗
神歯大 口腔解剖

歯周組織再生療法においてこれまでに様々な材料が利用されてきた。炭酸アパタイト(CO₃Ap)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。これまでに我々は歯槽骨形成時における微小循環の関連性を検討してきた。本研究では、炭酸量や気孔率など物性が異なる二種類のCO₃Ap応用時における組織再生過程の相異を、微小循環系に着目して形態学的に検討した。全身麻酔下においてビーグル犬(雌, 12カ月齢)6頭を用いて、両側上下前臼歯部の抜歯窩内に2種類のCO₃Ap系人工骨顆粒(A群: Cytrans Granule®, 直径300-600 μm; GC社製, B群: Synoss®, 直径350-1000 μm; ACE社製)を左右別に密に充填した。術後14, 30, 90日に灌流固定を行い、上顎はHE染色組織標本とした。下顎は下歯槽動脈よりメチルメタクリレート樹脂を注入し血管鋳型標本を作製し走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて観察した。(神奈川歯科大学実験動物倫理委員会承認番号18-029)結果として14日後から30日後までは両群ともほぼ同様の所見を示していた。14日後、顆粒は抜歯窩内部に多数残存し、血餅と新生血管に取り囲まれ、周囲に骨芽細胞が存在した。30日後においては、明確な骨添加により骨梁と骨髄が再生していた。90日後、歯槽骨の垂直的高さは両群とも回復していた。A群では顆粒を取り込んで骨形成が行われ、抜歯窩は緻密な骨形成像が観察された。一方B群では、顆粒の吸収が進行し、骨梁と広範な骨髄腔を有していた。これらの結果から、CO₃Ap顆粒周囲に新生血管が分布することで骨添加が促進され、骨形成には微小循環が関わっていると考えられた。さらにCO₃Ap顆粒の物性の違いが、骨再生過程における組織形態に影響を与えることが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Effect of the application of carbonate apatite granule graft on microvascularization in regeneration of alveolar bone

○To M, Matsuo M, Liu YH, Matsuo M
Dept Clin Oral Anat, Kanagawa Dent Univ

Several methods have been developed to regenerate lost alveolar bone. Carbonate apatite (CO₃Ap) is one of the safe materials for bone regeneration because it works as a scaffold for regeneration and has less risk of infection like other bone graft materials. In this study, tissue regeneration process between two types of CO₃Ap was observed morphologically. In six beagle dogs, the extracted sockets were densely filled with two types of CO₃Ap-based artificial bone granules (Group A: Cytrans Granule®, GC, Group B: Synoss®, ACE) separately on the right and left sides. Fourteen, 30 and 90 days after surgery, the maxilla was fixed with 2% Glutaraldehyde and HE-stained. The mandible was injected with methyl methacrylate resin to prepare a vascular resin cast specimen. At 14 and 30 days, both groups showed similar observation. After 90 days, in group A, osteogenesis was observed with the incorporation of granules in the sockets. In group B, the granules were resorbed and the bone trabeculae and extensive marrow cavity were created. These findings indicated that microcirculation was involved in bone formation because vascularization around CO₃Ap granules promoted bone addition. There was a difference in the morphology of bone regeneration depending on the physical properties of CO₃Ap granules.

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

3-P2-P132 MDF 高強度純チタンのインプラント体への応用

○財部 祐輔¹, 東 雅啓², 星 憲幸¹, 木本 克彦¹, 松尾 雅斗²

¹神歯大 院歯 クラウンブリッジ補綴, ²神歯大 院歯 口腔解剖

【目的】 現在インプラント体材料として用いられている純チタンやチタン合金は、機械的強度や生体適合性などが原因となる問題がある。我々は Multi directional forging (多軸鍛造法)により機械的強度を向上させた、MDF 純チタンの開発を行ってきた。本研究では、ビーグル犬下顎骨を用いて、in vivo における MDF 純チタンの生体内での動態を確認することを目的とした。【材料と方法】 実験動物として、月齢 12ヶ月齢の雌ビーグル犬 9 匹を用いた。実験に用いるインプラント体は、直径 3.4 mm×高さ 8.0 mm の円柱形インプラント体とし、MDF 純チタン(機械研磨, 酸処理)、従来法純チタン(機械研磨, 酸処理)の 4 種類で行い、インプラント体の酸処理は新規開発した酸処理方法により行った。埋入後 14 日, 30 日, 90 日で試料のサンプリングを行い、インプラント体中央部の骨接触率を計測し統計解析を行った。また、矢状断 SEM 標本を用いてインプラント体周囲骨形成像の観察と解析を行った。【結果】 SEM 標本において酸処理 MDF 純チタンは、他部位と比較してより密で滑沢な新生骨の添加が確認された。骨接触率は、すべての期間において酸処理 MDF 純チタンが高い値を示した。【考察】 MDF 純チタンは、従来法純チタンと比較し、機械研磨の状態においても、インプラント周囲骨に対して優位に働いた。更に新酸処理を行うことによって、in vitro での研究結果と同様に、従来法チタンに比べインプラント体表面への細胞増殖による、BIC 値上昇が確認された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Application of multi-directionally forged high-strength titanium to dental implants

○Takarabe Y¹, To M², Hoshi N¹, Kimoto K¹, Matsuo M²

¹Dept Fixed Prosthodont, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ²Dept Oral Anat, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

Introduction Currently, pure titanium and titanium alloys used as implant materials have problems due to their mechanical strength and biocompatibility. We have been developing MDF pure titanium with improved mechanical strength by multi-directional-forging. In this study, we investigated the in vivo behavior of MDF using the mandible of a beagle dog. **Materials and Methods** Implants used in the experiments were cylindrical in shape (3.4 mm diameter 8.0 mm height) and were made of four types materials: MDF, Ti (mechanical-polished and acid-treated), and a newly developed acid treatment method was used for the implants. Samples were sampled at 14, 30, 90 days after implantation, and the BIC at the center of the implant was measured for statistical analysis. The peri-implant osteogenesis was also observed by sagittal section SEM. **Results** In the SEM, denser and smoother new bone was added to the acid-treated MDF compared to other parts. The bone contact ratio was higher in the acid-treated titanium MDF in all periods. **Discussion** Compared with conventional titanium, MDF had a superior effect on bone even in the state of mechanical polishing. Furthermore, the new acid treatment increased the BIC due to cell proliferation on the implant surface compared to the conventional titanium, as shown in the in vitro study.

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

3-P2-P133 前喉頭蓋領域の組織学的構造解析から導き出される新たな嚥下メカニズムの構築

○北村 啓¹, 菊池 布恵¹, 小川 雄大¹, 笠原 典夫¹, 松永 智², 山本 将仁²,
阿部 伸一², 山本 仁¹

¹東歯大 組織発生, ²東歯大 解剖

前喉頭蓋領域とは、舌骨・喉頭蓋軟骨・甲状軟骨をつなぐ複数の靭帯に囲まれた領域を指す。中でも、舌骨と喉頭蓋軟骨をつなぐ舌骨喉頭蓋靭帯は解剖学的な構造解析が完全でないため、嚥下時の運動メカニズムに多くの矛盾が存在する。そこで我々は、舌骨喉頭蓋靭帯の3次元的な構造特性を明らかにすることを目的とし、新たな嚥下メカニズムを考案した。試料として、東京歯科大学所蔵の19献体から舌・喉頭を一塊に採取した。3体を肉眼観察、16体を組織学的観察に用いた。組織学的観察では通法に従ってパラフィン包埋を行い、半連続大切片を作製し、矢状、前額、水平方向から切断した。得られた大切片にH-E染色および、エラスチカマッソン染色を施し、光学顕微鏡、光学スキャナにて観察を行った。喉頭蓋谷粘膜下では、舌骨喉頭蓋靭帯が喉頭蓋軟骨の外側縁に付着し、太い線維束として認められた。この靭帯は正中に向かうに従い、喉頭蓋軟骨の下縁に付着する細い線維束へ変化していた。一方、正中舌喉頭蓋ヒダ粘膜下では、舌骨後方の間隙が舌喉頭蓋靭帯を2層の線維束に分けていた。このうち上部の線維はオトガイ舌筋と筋腱接合部を形成する太い腱であり、下部の線維は舌骨と喉頭蓋の最下点をつなぐ脆弱な靭帯であった。以上の結果より、喉頭蓋前方には直接筋と接合する能動的な構造が存在することが明らかとなった。そのため、喉頭蓋の後屈時は舌骨に誘導された舌骨喉頭蓋靭帯が喉頭蓋の基部を持ち上げ、オトガイ舌筋の弛緩が喉頭蓋の後屈をサポートしている。反対に喉頭蓋の復位時は舌骨が元の位置に戻ることによって喉頭蓋の基部を引き下げ、オトガイ舌筋の収縮により喉頭蓋が前方へ持続的に牽引されている可能性が示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

Construction of a new swallowing mechanism derived from histological structure analysis of the pre-epiglottic space

○Kitamura K¹, Kikuchi N¹, Ogawa Y¹, Kasahara N¹, Matsunaga S², Yamamoto M², Abe S², Yamamoto H¹

¹Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll, ²Dept Anat, Tokyo Dent Coll

The hyoepiglottic ligament is part of the pre-epiglottic space, representing an important tissue that assists the epiglottis in falling down during swallowing. However, previous anatomical studies have not reported the three-dimensional structure of the hyoepiglottic ligament. We therefore devised a new swallowing mechanism with the aim of clarifying the three-dimensional structural characteristics of the hyoepiglottic ligament. As samples, the tongue and larynx were collected en bloc from 19 cadavers donated to Tokyo Dental College, and macroscopic and histological observations were performed. In the lateral pre-epiglottic space, fiber bundles were found between the hyoid bone and epiglottic cartilage. On the other hand, the pre-epiglottic space in the middle showed two layers of fiber bundles, comprising the tendon between the genioglossus muscle and epiglottic cartilage as the upper part, and the ligament between the hyoid bone and epiglottic cartilage as the lower part. These results suggest that tension in the genioglossus muscle pulls the epiglottis forward, and relaxation of the genioglossus muscle may thus play a role in helping the epiglottis fall down.

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

3-P2-P134 成体イモリの顎再生と解剖・組織学的解析

○田谷 雄二, 川本沙也華, 埴 太宥, 工藤 朝雄, 佐藤かおり, 添野 雄一
日歯大 生命歯 病理

【目的】両生類のイモリは組織や臓器の再生能を有することで知られている。本研究では、成体イモリの下顎切除後の再生過程を解剖学的・組織学的に評価した。【方法】成体アカハライモリ (*Cynops Pyrrhogaster*) の雄を実験に用いた。全身麻酔下で下顎前方より約 1/2 を切除した。切除から 0~96 週間にわたって、X 線マイクロトモグラフィー (以下、マイクロ CT)、ならびに組織学的な手法により下顎組織が再生していく過程を解析した。【結果と考察】組織学的な解析とマイクロ CT による解析の併用から、下顎切除後、1 週間で切断面が傷上皮により塞がり、切除 3 週以降、下顎切断部に再生芽を形成し、この再生芽を基点として諸組織・器官の再生が開始された。下顎はオトガイ方向に向けて伸長しはじめ、早期から血管網の形成は顕著だが、それに遅れて神経軸索やリンパ管の伸長がみられるとともに、舌組織が再生し始めた。下顎骨は切除 16 週後から再生を開始した。32 週前後には左右の下顎骨が正中部近傍まで接近し、下顎アーチを再現するが、その伸長は不完全であり、本来よりも小さな下顎アーチを形成した。この段階ではメッケル軟骨のほかに盛んに歯胚を形成しており、再生した表皮から伸びた歯堤と歯胚が多数観察された。その後、下顎が元のサイズにまで成長するのに切除後 60~90 週を要し、下顎骨や軟骨、舌、唾液腺、歯、骨格筋などが元の状態に組織再生しているのが確かめられた。【結論】以上のことから、成体アカハライモリの再生では、再生芽を形成後、下顎内の諸組織を再生しながら本来よりも短い下顎アーチを形成し、その後、下顎全体を元のサイズへと復元していくことが示唆された。本研究は JSPS 科研費 #18H04061 の助成を受けた。【会員外共同研究者】筑波大学・生命環境系・再生生理 千葉親文、慶応義塾大学・医学部・形成外科 貴志和生、石井龍之。
【利益相反】利益相反状態にはありません。

Anatomical and histological analysis of regenerating tissues after jaw amputation in adult newt

○Taya Y, Kawamoto S, Hani T, Kudo T, Sato K, Soeno Y
Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

Objectives: The newts are known to regenerate various tissues in adults. In this study, we investigated the morphologic changes to be seen in the regenerative process of newt jaws. **Materials & Methods:** The adult newts (*Cynops Pyrrhogaster*) were amputated the half of lower jaws under the general anesthesia. We analyzed chronologically the morphologic changes of the regenerating jaws after amputation during 0-96 weeks according to microCT and histological approaches. **Results & Discussion:** The regenerative changes of jaws occurred in all newts amputated. The wound was covered by the epithelium after 1 week. The outline of lower jaw became arc-shaped after 16 weeks though the growth of jaw was not enough. Meckel's cartilage along the outline of jaw were regenerated from stump of cartilage prior to forming mandibular bones. Numerous tiny teeth and developing tooth germs on newly formed dentary bones were ranged along a dental arch, though the mandibular bones were still under regeneration after 30 weeks. Finally, it is established that the regeneration of lower jaw includes the mandibular and dentary bones, Meckel's cartilage, teeth, tongue, vascular tissues, neural axis was completed after between 60 and 90 weeks. Supported by JSPS KAKENHI Grant number 18H04061.
Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

The 63rd Annual Meeting of Japanese
Association for Oral Biology
October 9 (Sun)–11 (Mon), 2021
Kanagawa Dental University,
Yokosuka, Kanagawa,
JAPAN



JAOB JAPANESE ASSOCIATION FOR
ORAL BIOLOGY since 1958

Special Lecture Accorded by the LOTTE Foundation 1 (October 9, 13 : 10-14 : 40)

SL1

Enchantment under the Sea

Takai K

JAMSTEC X-star

Special Lecture Accorded by the LOTTE Foundation 2 (October 10, 13 : 10-14 : 40)

SL2

Forefront of gut microbiome research—Life science with/post CORONA era

Naito Y

Human Immunol Nutr Sci, Kyoto Prefec Univ Med

Lecture by JAOB/Lion Dent Research Awards Winner (October 10, 9 : 00-10 : 30)

L1

Pathophysiological mechanisms of orofacial pain

Shinoda M

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

L2

Intra- and extracellular environments regulate the differentiation of hard tissue-forming cells

Ida-Yonemochi H

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

JAOB/Rising Members Award Winner (October 10, 14 : 50-16 : 20)

JR1

Decreased expression level of arginase 1 in lacrimal glands induces lacrimal hyosecretion

Ohno Y

Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent

JR2

Erythromycin inhibits neutrophilic inflammation and mucosal disease by upregulating DEL-1

Maekawa T

Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

JR3

Relationship between impaired parasympathetic vasodilation and hyposalivation associated with diabetes mellitus

Sato T, Ishii H

Div Physiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

JR4

Characterization of bacterial membrane vesicles induced by glycine and their adjuvant activity

Hirayama S^{1,2}, Nakao R¹

¹Dept Bac I, Natl Inst Infect Dis, ²Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Educational Special lecture (October 9, 14 : 50-16 : 20)

ES

TIPS to make a scientific paper using the effective English writing (in cooperation with Elsevier Japan)

Ohshima H^{1,2}

¹Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Vice EIC of J Oral Biosci

Main symposium 1 (October 9, 11 : 10-12 : 40)

MS1-1

Selective IgA deficiency and increased risk of COVID-19

Yamamoto T

EPS Res Cent, EPS Holdings, Inc.

MS1-2

Detection of cross-reactive IgA against SARS-CoV-2 spike 1 subunit in saliva

Tsukinoki K^{1,2,3}

¹Dept Envir Pathol, Kanagawa Dent Univ, ²Saliva Sci Res Cent, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent,

³Japan Saliva Care Assoc

MS1-3

Development of COVID-19 Vaccine

Hasegawa H

Cent Influenza and Respir Virus Res, Natl Inst Infect Dis

Main symposium 2 (October 10, 10 : 40-12 : 10)

MS2-1

Surgical risk management in implant treatment based on clinical anatomy

Sekine H

Dept Crown Bridge Prosthodont, Tokyo Dent Coll

MS2-2

Vascular variations around the mandible that require attention

Abe S

Dept Anat, Tokyo Dent Coll

MS2-3

Oral biology of implant anatomy

Matsuo M

Dept Oral Anat, Kanagawa Dent Univ

MS2-4

Clinical usefulness of guided surgery in dental implant treatment

Kizu Y^{1,2,3}

¹Oral & Maxillofacial Care Clinic Yokohama, Kizu Dent Clin, ²Dept Oral Oncol Surgery, Tokyo Dent

Coll, ³Dept Oral Implantol, Tokyo Dent Coll

Main symposium 3 (October 11, 10 : 40-12 : 10)

MS3-1

Generation of endochondral bone tissues using human pluripotent stem cells

Ohba S

Dept Cell Biol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

MS3-2

Future perspective for regeneration of alveolar cleft using human umbilical cord derived mesenchymal stem cells

Suda N, Toyota A

Div Orthod, Meikai Univ Sch Dent

MS3-3

Development of bone regenerative medicine technology using human alveolar bone derived immature

osteoblast like cell and three-dimensional poly-lactic acid scaffold

Saito M¹, Handa K²

¹Div Oper Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ²Dept Oral Biochem, Kanagawa Dent Coll

JKS symposium (October 10, 16 : 30-18 : 00)

JKS-1

Hypothalamic neuronal cilia regulate energy homeostasis

Ki Woo Kim^{1,2}, Ji Su Sun^{1,2,#}, Dong Joo Yang^{1,3,#}, Ann W. Kinyua³, Seul Gi Yoon⁵, Je Kyung Seong^{4,5}, Juwon Kim³, Seok Jun Moon^{1,2}, Dong Min Shin¹, Yun-Hee Choi¹

¹Dept Oral Biol, Yonsei Univ Coll Dent Seoul, Korea, ²Dept Appl Biol Sci BK21 Plus, Yonsei Univ Coll Dent Seoul, Korea, ³Dept Lab Med and Global Med Sci Yonsei Univ Wonju Coll Med Wonju, Korea, ⁴Lab Deve Biol and Genomics, The Res Inst for Veteri Sci Coll of Veteri Med Seoul Natl Univ Seoul, Korea, ⁵ Korea Mouse Phenotyping Cent, Seoul, Korea, [#]These authors contributed equally

JKS-2

Light sensitivity of brown adipose tissue via photoreceptor Opsin3

Sato M

Dept Oral Biochem Mol Biol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

JKS-3

Role of G-protein coupled receptor GPRC6A in regulating adipose tissue metabolism

Mizokami A¹, Otani T², Kanematsu T³, Jimi E^{1,4}, Hirata M⁵

¹OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll, ³Sect Aging Sci, Kyushu Univ Grad Sch Dent Pharmacol, ⁴Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ⁵Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll

JKS-4

Brain glucose metabolism in aging and age-related disorders

Ando K^{1,2}, Oka M¹, Abe S²

¹Dept Biol Sci Grad Sch Sci, Tokyo Metropolitan Univ, ²Dept Biol Sci Sch Sci Tokyo Metropolitan Univ

Academy Symposium of JAOB (October 9, 9 : 00-10 : 30)

AS-1

The effect of oral dysbiosis on glucose/lipid metabolism

Katagiri S

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

AS-2

New definition of placenta as the transmitter of exercise information to next generation

Kusuyama J

FRIS, Tohoku Univ

AS-3

Single-cell analysis unveils cellular plasticity of bone marrow stromal cells in bone regeneration

Matsushita Y^{1,2}

¹Dept Orthodont Pediatr Dent, Univ Michigan Sch Dent, ²Dept Clin Oral Oncol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

AS-4

Elucidation of organ fate determination mechanism in epithelial-mesenchymal network

Yoshizaki K

Sect Orthod, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Symposium Cooperated by “Network for International Education and Research in Advanced Dental Sciences (October 9, 9 : 00–10 : 30)

AD-1

Prospects and challenges of dental regenerative medicine

Murakami S

Dept Periodontol, Osaka Univ Grad Sch Dent

AD-2

Revolution and perspective of basic research in oral science

Ishimaru N

Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

AD-3

The role of group 2 innate lymphoid cells in lung fibrosis

Moro K^{1,2}

¹Lab for Innate Immune Systems, Grad Sch Med Osaka Univ, ²Lab for Innate Immune Systems, RIKEN Cent for Integrative Med Sci (IMS)

AD-4

Cells intracellularly sense the invisible force of osmosis

Ichijo H

Lab Cell Signaling, Grad Sch Pharmaceut Sci, The Univ of Tokyo

The joint symposium of Japan Salivary Gland Society and Japanese Association for Oral Biology (October 9, 14 : 50–16 : 20)

KDS-1

Roles of Japan Salivary Gland Society and Japanese Association for Oral Biology in the saliva/salivary gland research against COVID-19 infection

Amano O

Div Anat, Meikai Univ Sch Dent

KDS-2

Detection of SARS-CoV-2 using saliva

Teshima T^{1,2}

¹Dept Hematol, Hokkaido Univ Fac of Med, ²Div Lab Med Blood Transfusion, Hokkaido Univ Hosp

KDS-3

SARS-CoV-2 in the oral cavity/saliva

Imai K

Dept Microbiol Div Immunol and Pathobiol, Dent Res Cent, Nihon Univ Sch Dent

KDS-4

Effectiveness of MA-T, a new disinfectant candidate, and its mechanism

Adachi H

Lab of MA-T Oxidation Control Sci Grad Sch Pharmaceut Sci, Osaka Univ

KDS-5

ACE2 expression in human salivary gland and new development of oral care product using MA-T

Sakai T

Dept Oral-Facial Disorders, Osaka Univ Grad Sch Dent

Innovation Loadmap Symposium (October 11, 13 : 10-14 : 40)

IRS-1

Roles and issues of metals in regenerative medicine

Hanawa T^{1,2}

¹Inst Biomater Bioeng, Tokyo Med Dent Univ, ²Cent Adv Med Eng Res Dev, Kobe Univ

IRS-2

Decellularized tissue as a new biomaterial

Kishida A

Div Mater-based Med Eng, Inst Biomater Bioeng, Tokyo Med Dent Univ

IRS-3

An innovation roadmap toward the next generation regenerative prosthodontics

Egusa H

Div Mol Regen Prosthodont, Tohoku Univ Grad Sch Dent

IRS-4

Development of salivary gland three-dimensional culture model

Mishima K

Div Pathol, Showa Univ Sch Dent

Bone Morphometry Symposium (October 11, 14 : 50-16 : 20)

BS-1

Imaging characteristics and evaluation in osteonecrosis of the jaw by FDG-PET (Overview 1)

Kitagawa Y¹, Asaka T¹, Sato J¹, Amizuka N²

¹Dept Oral Diagn Med, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ²Dept Deve Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

BS-2

Properties of biomaterials used for maxillofacial reconstruction: Mechanical durability and bone induction performance

Hanawa T^{1,2}

¹Inst Biomater Bioeng, Tokyo Med Dent Univ, ²Cent Adv Med Eng Res Dev, Kobe Univ

BS-3

Bone regenerative medicine using 3D tissue fabrication

Hoshi K

Oral and Maxillofac surg, Grad Sch Med, The Univ of Tokyo

BS-4

Histological evaluation and clinical application of octacalcium phosphate and collagen composite

Takahashi T¹, Matsui K¹, Kamakura S², Kawai T³, Suzuki O⁴

¹Div Oral Maxillofac Surg, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ²Div Regen Biomed Eng, Tohoku Univ Grad Sch Medical Eng, ³Div Oral Maxillofac Surg, Iwate Med Univ Sch Dent, ⁴Div Craniofac Functi Bioeng, Tohoku Univ Grad Sch Dent

BS-5

Jaw osteogenesis using RANKL binding peptide

Aoki K¹, Matsumoto Y², Khan M¹, Nagahiro S³, Iwamoto T³, Ono T², Tamura Y⁴

¹Dept Basic Oral Health Eng, ²Dept Orthodont Sci, ³Dept Pediatr Dent, ⁴Dept Pharmacol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

BS-6

Evaluating the bone affinities of implanted materials by bone histomorphometry

Tanaka S
Dept Orthopaed Surg, Saitama North Med Cene

Public Lecture (October 11, 9 : 00–10 : 30)

PL
Oral Biology for Athletes
Hanada K

Update symposium 1 (October 9, 16 : 30–18 : 00)

US1-1
Mechanisms underlying secretory leukocyte peptidase inhibitor-induced cell migration and invasion in Ca9-22, an oral gingival carcinoma cell line
Mikami Y¹, Hayatsu M¹, Mizutani Y²
¹Div Microscop, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ²Hokkaido Univ IR

US1-2
Effect of ammonia on brain—relationship with microbiota—
Terunuma M
Div Oral Biochem, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

US1-3
A potential link between oral diseases and metabolic issues
Iwata J
Dept Diag Biomed Sci, Univ of Texas Health Sci Cent at Houston (UTHealth) Sch Dent

US1-4
IgG4-related disease: the perspectives on innate immunity
Moriyama M^{1,2}
¹Sect Oral Maxillofac Oncol, Div Maxillofac Diag and Surg Sci, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ²OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ

US1-5
The considerative importance of periodontal cellular death on periodontal disease and medical disease
Tsuda H
Dept Biochem, Nihon Univ Sch Dent

Update symposium 2 (October 9, 16 : 30–18 : 00)

US2-1
New perspective of tooth identification
Kondo S¹, Ohshima H²
¹Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ²Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

US2-2
Identification of human molars with morphometric mapping
Morita W¹, Morimoto N²
¹Dept Anthropol, Natl Mus Nat Sci, ²Lab Phys Anthropol, Grad Sch Sci, Kyoto Univ

US2-3
Cognitive psychological analysis using event-related potential (ERP) for tooth differentiation
Aoki S, Ito T
Dept Oral Diag, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

US2-4

Application of a deep learning artificial intelligence system for individual tooth identification

Igarashi Y¹, Kondo S¹, Uchikoba F², Kaneko M², Aibara M²

¹Dept Anat, Nihon Univ School Dent at Matsudo, ²Col Sci and Eng, Dept Prec Machine Eng, Nihon Univ

US2-5

Future perspectives of artificial intelligence (AI) in dental medicine

Tsuneki M^{1,2}

¹Medmain Inc., ²Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Update symposium 3 (October 10, 14 : 50-16 : 20)

US3-1

Bone regeneration by OCP-based bone substitute materials

Suzuki O, Shiwaku Y, Hamai R

Div Craniofac Funct Eng, Tohoku Univ Grad Sch Dent

US3-2

Development of bone graft material using recombinant peptide based on human collagen type I

Miyaji H

Dept Periodontol Endodont, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

US3-3

Bone regeneration by using the novel phosphorylated polysaccharide "Phosphorylated pullulan"

Hasegawa T¹, Morimoto Y^{1,2}, Kubota K^{1,3}, Hongo H¹, Yoshida Y⁴, Amizuka N⁴

¹Dept Deve Biol Hard Tissue, ²Dept Periodonol Endodont, ³Dept Oral Funct Prosthodont, ⁴Dept Biomater

Bioengin, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

US3-4

Evaluation of bone quality in regenerated bones using preferential orientation of collagen/apatite

Ishimoto T, Nakano T

Div Mater Manuf Sci, Osaka Univ Grad Sch Eng

Update symposium 4 (October 10, 16 : 30-18 : 00)

US4-1

Analysis of "tumor parenchymal and stromal association" in oral cancer cell proliferation

Fujii S, Kiyoshima T

Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

US4-2

The acquired novel role of cancer cells via senescence-like state and its molecular mechanism

Tsunematsu T, Ishimaru N

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

US4-3

Development of novel therapeutic strategies targeting tumor microenvironment network signals

Watabe T

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

US4-4

The role of tumor blood vessels in tumor progression

Maishi N, Hida K

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

US4-5

Cancer-promoting exosomes and their functional suppression

Eguchi T

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

Update symposium 5 (October 11, 13 : 10-14 : 40)

US5-1

Introduction : Diversity of oral physiology research

Ono K¹, Kato T²

¹Div Physiol, Kyushu Dent Univ, ²Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

US5-2

Integration and transfiguration of researches on diverse oral function

Inoue T

Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent

US5-3

Central projections of proprioception from masticatory muscle spindles demonstrated by a combination of morphological neuronal tract tracing and electrophysiological recording in rats

Yoshida A¹, Sato F¹, Tsutsumi Y¹, Furuta T¹, Tachibana Y²

¹Dept Oral Anat Neurobiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, ²Dept Physiol Cell Biol, Kobe Univ Grad Sch Med

US5-4

Oral physiology from the clinical point of view

Inoue M

Div Dysphagia Rehabil, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

US5-5

Taste memory storage in the brain: the central mechanisms of conditioned taste aversion

Inui T, Funahashi M

Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

US5-6

Diversity in deliciousness: The new method to evaluate oral viscosity discrimination in rats

Nakatomi C

Div Physiol, Kyushu Dent Univ

Update symposium 6 (October 11, 14 : 50-16 : 20)

US6-1

The study on the production of acetaldehyde from ethanol by oral bacteria—Effects of oral environmental factors and ethanol concentration—

Tagaino R^{1,2}, Washio J¹, Sasaki K², Takahashi N¹

¹Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ²Div Adv Prosthet Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

US6-2

Profiling of microbiota in various remaining drinks of plastic bottle after drinking directly from plastic bottles

Kawachi M¹, Takahashi N¹, Kaku N¹, Higuchi M¹, Wakui A¹, Washio J², Takahashi N², Sato T¹

¹Div Clin Chem, Niigata Univ Grad Sch Health Sci, ²Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

US6-3

An *in vitro* senescence model of gingival epithelial cell induced by hydrogen peroxide treatment and

reversal of senescence by fisetin

Giri S¹, Takada A², Nagano K³, Paudel D⁴, Yoshida K⁴, Furukawa M⁵, Kuramitsu Y⁶, Matsushita K⁵, Abiko Y⁴, Furuichi Y¹

¹Div Periodont Endodont Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ²Div Biochem Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ³Div Microbiol Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ⁴Div Oral Med Pathol Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ⁵Dept Oral Dis Res, Natl Cent for Geriatr Gerontol, ⁶Res Inst Cancer Prev, Health Sci Univ Hokkaido

US6-4

Significance of oral microbiome study related to non communicable diseases in Indonesia

Theodorea CF, Djais AA, Bachtiar BM

Dept Oral Biol, Fac Dent, Univ Indonesia

US6-5

Exploring the bacterial features of oral *Veillonella* by comparative pan-genome analysis

Mashima I¹, Liao YC², Lin CH², Nakazawa F³, Haase EM⁴, Kiyoura Y¹, Scannapieco FA⁴

¹Div Oral Infect Immun, Ohu Univ Sch Dent, ²Div Biostat Bioinfor, Inst Pop Heal Sci, Nat Heal Res Inst,

³Dept Oral Biol, Fac Dent, Univ Indonesia, ⁴Dept Oral Biol, Sch Dent Med, Univ Buffalo, The State Univ NY

■ Poster Presentation

(October 9, 12 : 10-13 : 10)

1-P1-PM01	Comprehensive analysis of molecular pathways and key genes involved in axonal guidance in the hypoglossal nerve into mouse tongue primordia ○Hani T ¹ , Taya Y ¹ , Horie T ² , Sasaki Y ³ , Kawamoto S ¹ , Kudo T ¹ , Sato K ¹ , Soeno Y ¹ (¹ Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ² Dept Oral Health, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ³ Dept Dent, Kanagawa Child Med Cent Yokohama)
1-P1-PM02	Role of neural crest-derived cells in palate-wound healing process ○Takizawa H ^{1,2,3} , Karakawa A ^{1,2} , Chatani M ^{1,2} , Suzawa T ⁴ , Sakai N ^{1,2} , Azetsu Y ^{1,2} , Urano E ⁵ , Kamiyo R ⁴ , Maki K ³ , Takami M ^{1,2} (¹ Dept Pharmacol, Showa Univ Sch Dent, ² Pharmacol Res Cent, Showa Univ, ³ Dept Orthodont, Showa Univ Sch Dent, ⁴ Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent, ⁵ Dept Prosthodont, Showa Univ Sch Dent)
1-P1-PM03	G-protein coupled receptor Gpr111/Adgrf2 regulates enamel mineralization ○Chiba Y ¹ , Yoshizaki K ² , Tian T ² , Chiba M ³ , Han X ¹ , Inada S ¹ , Fukumoto S ^{1,3} (¹ Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³ Div Pediatr Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
1-P1-PM04	Nephronectin regulates ameloblast differentiation through its RGD domain ○Mizuta K ¹ , Yoshizaki K ¹ , Miyazaki K ¹ , Funada K ¹ , Yuta T ¹ , Tian T ¹ , Fu Y ¹ , Kawahara J ¹ , Fukumoto S ² , Takahashi I ¹ (¹ Sect Orthod Dentfac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
1-P1-PM05	Wnt/ β -catenin-mediated YAP signaling activation regulates tooth germ morphogenesis ○Nagano R, Kiyoshima T, Fujii S (Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
1-P1-PM06	A GPI-anchored protein Lypd1 plays an important role in odontoblast differentiation during tooth development ○Fu Y ¹ , Miyazaki K ¹ , Yoshizaki K ¹ , Chiba Y ² , Funada K ¹ , Tian T ¹ , Yuta Y ¹ , Mizuta K ¹ , Fukumoto S ² , Takahashi I ¹ (¹ Sect Orthod Dentfac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
1-P1-PM07	Low-temperature prevents the side effects of an anti-cancer drug, cyclophosphamide, in tooth organ culture model ○Tian T ¹ , Yoshizaki K ¹ , Miyazaki K ¹ , Funada K ¹ , Yuta T ¹ , Mizuta K ¹ , Fu Y ¹ , Kawahara J ¹ , Fukumoto S ² , Takahashi I ¹ (¹ Sect Orthod Dentfac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
1-P1-PM08	Molecular regulation of myoblast differentiation in embryonic mouse tongue ○Kawamoto S ¹ , Taya Y ¹ , Sasaki Y ² , Hani T ¹ , Kudo T ¹ , Sato K ¹ , Soeno Y ¹ (¹ Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ² Dept Dent, Kanagawa Child Med Cent Yokohama)
1-P1-PM09	Observation of palatal shelf elevation using by live imaging method ○Nagasaka A ¹ , Sakiyama K ¹ , Bando Y ¹ , Onozawa G ^{1,2} , Amano O ¹ (¹ Div Anat, Meikai Univ Sch Dent, ² Div First Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch of Dent)
1-P1-PM10	The role of BMP receptors Smad signaling pathway in mesenchymal cell migration induced by Growth Differentiation Factor 5 (GDF5) in chondrogenesis ○Takezaki M ¹ , Niidome Y ² , Hayashi Y ¹ , Hatakeyama J ³ , Yoneda M ³ , Hatakeyama Y ¹ , Tamaoki S ² (¹ Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll, ² Div Orthodont, Fukuoka Dent Coll, ³ Div Gen Dent, Fukuoka Dent Coll)
1-P1-PM11	Exploration of the appropriate conditions for promoting osteoblast differentiation by an <i>in vitro</i> uniaxial stretch stimulation ○Takemoto F ^{1,2} , Fukuhara Y ¹ , Ikegame M ¹ , Kamioka H ² , Okamura H ¹ (¹ Dept Oral Morphol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ² Dept Orthodont, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
1-P1-PM12	The roles of miR-125b in bone formation: analysis of miR-125b-2 KO mice ○Ogasawara T ^{1,2} , Minamizaki T ¹ , Kohno S ¹ , Hoshino T ¹ , Yoshiko Y ¹ (¹ Dept Calcif Tissue Biol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci, ² Dept Orthod, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)
1-P1-PM13	Cellular mechanism on cortical porosity induced by intermittent PTH administration ○Abe M ¹ , Yamamoto T ^{1,2} , Hongou H ¹ , Alireza N ¹ , Amizuka N ¹ , Hasegawa T ¹ (¹ Dept Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent, ² Camp Makomanai JGSDF)
1-P1-PM14	Whole transcriptome profiling and immunohistochemical analysis in the TMJ condyle of aged mice ○Yang MC, Nakamura M, Sasano Y (Div Craniofac Dev Tissue Biol, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
1-P1-PM15	Differential ability of Gli1-positive cells in periodontal ligament after tooth extraction ○Fujii S ¹ , Takebe H ² , Mizoguchi T ³ , Shimo T ¹ , Hosoya A ² (¹ Div Reconstruct Surg Oral Maxillofac Reg, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ² Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ³ Oral Health Sci Cent Tokyo Dent Coll)
1-P1-PM16	Bone regeneration around the implant with the novel bone substitute mixed with phosphorylated pullulan and beta-tricalcium phosphate ○Kubota K ^{1,2} , Yokoyama A ¹ , Amizuka N ² , Hasegawa T ² (¹ Dept Oral Funct Prosthodont, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ² Dept Deve Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
1-P1-PM17	Mash1 cell lineage analysis in taste bud organoid ○Matsuyama K, Kataoka S, Toyono T, Seta Y (Div Anat, Kyushu Dent Univ)
1-P1-PM18	Alteration of oral and perioral soft tissues in incisor tooth-deficient mice ○Takagi T, Yamamoto M, Watanabe G, Sekiya S, Yamamoto Y, Kanehira C, Hirouchi H, Matunaga S, Abe S (Div Anat, Tokyo Dent Coll)
1-P1-PM19	Novel therapeutic mechanism of extracellular vesicles-mediated deciduous tooth pulp stem cell-based therapy for systemic lupus erythematosus ○Sonoda S, Yamaza T (Sect Mol Cell Biol Oral Anat, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
1-P1-PM20	M cells contribute to the immune surveillance in the eye region ○Oya Y, Kimura S, Hase K (Div Biochem, Keio Univ Grad Sch Pharm)
1-P1-PM21	Specific localization of fibroblast and myoepithelial cells in the intercalated duct of rat major salivary glands ○Onozawa G ^{1,2} , Nagasaka A ¹ , Bando Y ¹ , Sakiyama K ¹ , Amano O ¹ (¹ Div Anat, Meikai Univ Grad Sch Dent, ² Dept Maxillofac Oral Surg, Meikai Univ Grad Sch Dent)

1-P1-PM22	Involvement of hyalinization and odontoclasts in the inhibitory effect of lithium on orthodontic root resorption ○Ueda Y ¹ , Moriishi T ² , Hotokezaka Y ³ , Hotokezaka H ¹ (Dept Orthod Dentfac Orthop, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, ² Dept Cell Biol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, ³ Dept Cli Oral Oncol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
1-P1-PM23	RANKL/OPG ratio regulates odontoclastogenesis in damaged dental pulp ○Nishida D ¹ , Arai A ² , Horibe K ¹ , Nakamichi Y ³ , Hosoya A ⁴ , Nakamura H ¹ , Kobayashi Y ³ , Udagawa N ⁵ , Mizoguchi T ⁶ (Dept Oral Anat, Matsumoto Dent Univ, ² Dept Orthodont, Matsumoto Dent Univ, ³ Inst for Oral Sci, Matsumoto Dent Univ, ⁴ Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ⁵ Dept Oral Biochem, Matsumoto Dent Univ, ⁶ Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll)
1-P1-PM24	Fabrication of human three-dimensional lung tissue models using layer-by-layer cell coating technique ○Akamatsu Y ^{1,2} , Sumitomo T ¹ , Kawabata S ¹ (Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, ² Div Spec Needs Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent)
1-P1-PM25	Mechanism of enhanced production of IL-2 from anti CD3-stimulated mouse spleen cells by Brazilian propolis ○Tsuruta H ¹ , Kamiya M ² , Ikeno K ³ , Ueno K ⁴ , Umemura N ⁴ , Takayama E ⁴ , Kawaki H ⁵ , Nakamura G ³ , Nikaido T ¹ , Kondoh N ⁴ (Dept Oper Dent, Asahi Univ Sch Dent, ² Dept Business Admini, Asahi Univ Sch Manage, ³ AKITAYAHONTEN CO LTD R&D Dep, ⁴ Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, ⁵ Dept Chem, Asahi Univ Sch Dent)
1-P1-PM26	Modification of cytokine production in anti CD3 antibody-stimulated mouse spleen cells treated with Artepillin C and PPAR-γ antagonist, GW9662 ○Takahashi M ¹ , Kamiya M ³ , Kawaki H ² , Ikeno K ⁴ , Takayama E ² , Nakamura G ⁴ , Umemura N ² , Ueno K ² , Muramatsu Y ¹ , Kondoh N ² (Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent, ² Dept Oral Biochem Div Oral Struct, Funct Dev Asahi Univ Sch Dent, ³ Dept Chem, Asahi Univ Sch Business Admini, ⁴ AKITAYAHONTEN CO LTD R&D Dep)
1-P1-PM27	Effect of basic fibroblast growth factor on the differentiation of HUCPVC ○Yabe M ¹ , Karakida T ² , Yamamoto R ² , Nonoyama S ¹ , Yamakoshi Y ² , Nagano T ¹ , Gomi K ¹ (Dept Periodont Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
1-P1-PM28	Identification and verification of effectiveness of regeneration factors in bone proteins ○Saito H ^{1,2} , Yamamoto R ² , Shirai M ¹ , Chiba-Ohkuma R ² , Yamakoshi Y ² (Dept Removable Prosthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
1-P1-PM29	The diabetic causative gene GPRC5B suppresses stress-induced apoptosis upon glucose starvation in head and neck squamous cell carcinoma ○Kanamori K, Ozawa S, Ikoma T, Suzuki K, Tanaka K, Sawai N, Abe T (Dept Dentmaxillofac Diag Tre, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
1-P1-PM30	Effect of S-PRG filler eluate with different boron concentrations prepared by anion exchange on human dental pulp-derived stem cells ○Tatsumi Y ¹ , Kawaki H ^{2,3} , Ueno K ³ , Shintani K ⁴ , Umemura N ³ , Kamiya M ^{3,5} , Takayama E ³ , Hotta M ⁶ , Nikaido T ¹ , Kondoh N ³ (Dept Oper Dent, Asahi Univ Sch Dent, ² Dept Chem, Asahi Univ Sch Dent, ³ Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, ⁴ Dept Dent Mater Sci, Asahi Univ Sch Dent, ⁵ Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin, ⁶ Asahi Univ)
1-P1-PM31	Non-canonical NF-κB pathway is involved in postmenopausal obesity ○Mori K ¹ , Mizokami A ² , Sano T ³ , Kanematsu T ³ , Jimi E ^{1,2} (Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² OBT Res Cent Fac Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³ Sect Aging Sci Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
1-P1-PM32	Inhibitory effects of toothpaste and mouthwash ingredients on the interaction between S-protein of SARS-CoV-2 and ACE2 ○Yutori M ¹ , Tsutsumi K ¹ , Tsuji M ² , Kurita K ¹ , Nishinaga E ¹ , Tsukinoki K ³ (Oral Care Res Lab, Lion Corp, ² Inst Mol Funct, ³ Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
1-P1-PM33	Inhibitory effects of toothpaste and mouthwash ingredients on SARS-CoV-2 priming protease TMPRSS2 ○Makino R ¹ , Iwamoto T ¹ , Tsuji M ² , Morishita S ¹ , Yamamoto Y ¹ , Tsukinoki K ³ (Adv Oral Health Sci Res Lab, Lion Corp, ² Inst Mol Funct, ³ Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
1-P1-PM34	RAF1-MEK/ERK-mediated ARL4C expression promotes ameloblastoma cell proliferation and osteoclast formation ○Kokura M ¹ , Fujii S ¹ , Jimi E ^{2,3} , Kiyoshima T ¹ (Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² OBT Res Cent Fac Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³ Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
1-P1-PM35	Regulation of epithelial-mesenchymal transition in oral squamous cell carcinoma: intraepithelial progression and stromal invasion ○Abe T ¹ , Yamazaki M ¹ , Maruyama S ² , Tanuma J ¹ (Div Oral Pathol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Oral Pathol Sect Dept Surg Pathol, Niigata Univ Med Dent Hosp)
1-P1-PM36	The virucidal effects of cetylpyridinium chloride as antiseptic substances in mouthwash against SARS-CoV-2 ○Takeda R ^{1,2} , Maishi N ¹ , Hida K ¹ (Dept Vas Biol & Mol Pathol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ² Dept Oral Diagn Med, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
1-P1-PM37	Elucidation of salivary gland morphogenesis and adenoid cystic carcinoma growth control mechanism by Semaphorin3A, an axonal guidance factor ○Fujimoto T ¹ , Fujii S ² , Kiyoshima T ² (Kyushu Univ Hosp Clin Educ Training Cent, ² Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
1-P1-PM38	The AhR ligand regulates bone homeostasis by regulating osteoclast differentiation via the AhR/Cyp1a1 signalling axis ○Yoshikawa Y, Izawa T, Kamioka H (Dept Orthodont, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
1-P1-PM39	The inhibition of intracellular calcium excretion by phenytoin enhances agonist-induced calcium responses ○Minowa E ¹ , Kurashige Y ¹ , Nezu A ² , Saitoh M ¹ , Tanimura A ² (Div Pediatr Dent, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ² Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
1-P1-PM40	Calcium response in glial cells and enhancement by brain-derived neurotrophic factor ○Goh K ¹ , Nezu A ² , Tanimura A ² (Div Dent Anesthesiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ² Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
1-P1-PM41	Effects of muscarinic receptor activation on cholinergic neurons located in the ventrolateral periaqueductal gray matter ○Kawasaki S, Nakaya Y, Kobayashi M (Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent)
1-P1-PM42	Purinergic receptor enhances inhibitory synaptic transmission in rat insular cortex ○Kosukegawa S ¹ , Yamamoto K ² , Kobayashi M ² (Dept Orthodont, Nihon Univ Sch Dent, ² Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent)

1-P1-PM43	Acetylcholine-induced blood flow changes play important role for salivary secretion in different AQP5 expression rat strains ○Akter T, Nezu A, Tanimura A (Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
1-P1-PM44	Functional analysis of Cdc42 in salivary glands, lacrimal glands, and pancreas using genetically modified mice ○Nagase H, Shitara A, Ohno Y, Kashimata M (Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent)
1-P1-PM45	Mechanisms of spontaneous Ca ²⁺ oscillation in dental epithelial cells and dental pulp stem cells and effects on gene expression ○Ishida N, Semba S, Tanimura A (Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
1-P1-PM46	Imaging analysis of bone destruction and bone invasion of squamous cell carcinoma cells using tissue clearing technology ○Shimatani M ¹ , Tanimura A ² , Nezu A ² (¹ Div Reconstruct Surg Oral Maxillofac Reg, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ² Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
1-P1-PM47	Teriparatide administration harmonizes the arrangement of bone collagen and bone microstructure—a novel fluorescence analysis to evaluate bone quality— ○Sato T, Lee JW, Iimura T (Dept Pharmacol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
1-P1-PM48	Effects of fat and cholesterol intake on tooth and bone homeostasis in mice ○Sato Y ^{1,2,3} , Sakai N ^{2,3} , Karakawa A ^{2,3} , Azetsu Y ^{2,3} , Chatani M ^{2,3} , Takami M ^{2,3} (¹ Div Dent For Persons with Disabilities, Showa Univ Sch Dent, ² Dept Pharmacol, Showa Univ Sch Dent, ³ Dept Pharm Res Cent, Showa Univ Sch Dent)
1-P2-PM01	Development of a method for LTP of inhibitory synapses by optogenetics ○Kobayashi S ^{1,2} , Yamamoto K ¹ , Fujita S ² , Kobayashi M ¹ (¹ Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent, ² Dept Biol, Nihon Univ Sch Dent)
1-P2-PM02	Diurnal variation in trigeminal pain sensitivity in mice ○Niuro A ¹ , Ohno S ¹ , Tomita K ² , Kuramoto E ³ , Nakamura W ⁴ , Sugimura M ¹ (¹ Dept Dent Anesthesiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ³ Dept Anat Oral Sci, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁴ Dept Oral Chrono-Physiol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
1-P2-PM03	Oligodendrocyte-derived IL-33 promotes orofacial neuropathic pain ○Kimura Y ^{1,2} , Hayashi Y ¹ , Shinoda M ¹ (¹ Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent, ² Dept Oral Maxillofac Surg, Div Oral Surg, Nihon Univ Sch Dent)
1-P2-PM04	Effects of inhibition of neuronal activity in the bed nucleus of the stria terminalis on the retrieval of conditioned taste aversion in male mice ○Kikuchi E ^{1,2} , Inui T ¹ , Su S ¹ , Funahashi M ¹ (¹ Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ² Dept Orthodont, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
1-P2-PM05	Longitudinal changes of masticatory muscle activities after weaning in rats ○Yamada M ¹ , Katagiri A ¹ , Masuda Y ² , Sato H ¹ , Toyoda H ¹ , Niwa H ² , Kato T ¹ (¹ Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, ² Dept Dent Anesth, Osaka Univ Grad Sch Dent, ³ Dept Oral Maxillofac Biol, Grad Sch Oral Med Matsumoto Dent Univ, ⁴ Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent)
1-P2-PM06	Possible role of the area postrema in emetine- and cisplatin-induced conditioned taste avoidance ○Su S, Yasuura N, Yoshizawa T, Inui T, Funahashi M (Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
1-P2-PM07	Atropine facilitates initiation of swallowing evoked by distilled water in anaesthetized rats ○Nakajima Y, Tsujimura T, Nagoya K, Yoshihara M, Kawada S, Tsutsui Y, Inoue M (Div Dysphagia Rehabil, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)
1-P2-PM08	Suppression of the swallowing reflex by stimulation of the lateral reticular nucleus ○Sakazume T ¹ , Satoh Y ² , Murakawa A ² , Ohkoshi S ¹ (¹ Dept Int Med, Nippon Dent Univ at Niigata, ² Dept Physiol, Nippon Dent Univ at Niigata)
1-P2-PM09	Site-specific autonomic vasomotor responses and their interactions in rat gingiva ○Okada Y ¹ , Saitoh M ¹ , Ishii H ² (¹ Div Pediatr Dent, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ² Div Physiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
1-P2-PM10	Effect of steroid ointment in an oral ulcer model rat ○Naniwa M ^{1,2} , Nakatomi C ¹ , Hitomi S ³ , Matsuda K ⁴ , Ono K ¹ (¹ Div Physiol, Kyushu Dent Univ, ² Div Oral Health Sci, Kyushu Dent Univ, ³ Div Physiol, Nihon Univ Sch Dent, ⁴ Daiichi Sankyo Healthcare Co Ltd)
1-P2-PM11	Intercellular communication between trigeminal ganglion neurons and odontoblasts ○Saito N ¹ , Kimura M ² , Ouchi T ² , Shibukawa Y ² , Ichinohe T ¹ (¹ Dept Dent Anesthesiol Tokyo Dent Coll, ² Dept Physiol Tokyo Dent Coll)
1-P2-PM12	Hibernating phase serum effects on differentiation of PBMCs, and ADSCs to osteoclasts and osteoblasts/osteocytes <i>in vitro</i> ○Nasoori A ^{1,2} (¹ Grad Sch Vet Med Hokkaido Univ, ² Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
1-P2-PM13	Chronic <i>Porphyromonas gingivalis</i> -LPS plays an important role for the development of cardiac dysfunction via activation of Toll like receptor 4 signaling ○Matsuo I ¹ , Suita K ² , Hayakawa Y ³ , Ito A ⁴ , Ishikawa M ⁵ , Kiyomoto K ¹ , Tsunoda M ¹ , Ohnuki Y ² , Gomi K ¹ , Okumura S ² (¹ Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³ Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁴ Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁵ Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
1-P2-PM14	Vidarabine, an anti-Herpes agent, prevents cardiac dysfunction caused by occlusal disharmony without adverse effect on heart function in mice ○Hayakawa Y ¹ , Ohnuki Y ² , Suita K ² , Ishikawa M ³ , Ito A ⁴ , Matsuo I ⁵ , Kiyomoto K ³ , Tsunoda M ⁵ , Kawahara H ¹ , Okumura S ² (¹ Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³ Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁴ Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁵ Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
1-P2-PM15	Effect of high-fat or low-protein diets on AQP5 expression in mouse salivary gland ○Hirata A ^{1,2} , Yao C ³ , Mukai R ⁴ , Hasegawa T ³ , Yoshimura H ³ , Akamatsu T ² (¹ Div Biores Sci Grad Sch Sci Technol Innov, Tokushima Univ, ² Field Biomol Func Technol Industr Soc Sci, Tokushima Univ, ³ Dept Mol Oral Physiol, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci, ⁴ Field Food Sci Technol Industr Soc Sci, Tokushima Univ)

1-P2-PM16	Chronic administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs suppresses sweet and umami taste responses in mice ○Hirayama A ^{1,2} , Iwata S ¹ , Oike A ¹ , Watanabe Y ¹ , Kawabata Y ¹ , Sanematsu K ¹ , Takai S ¹ , Takahashi I ² , Shigemura N ¹ (Sect Oral Neurosci, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² Sect Orthod, Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³ Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ⁴ OBT Res Cent Fac Dent Kyushu Univ Grad Sch Dent, ⁵ Res Deve Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
1-P2-PM17	Expression and coupling of melatonin MT ₂ receptor to cyclic AMP and calcium signaling pathways in human airway smooth muscle ○Sasaki H, Mizuta K (Dent Oral Anesthesiol, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
1-P2-PM18	Intracellular cAMP signaling pathway via Gs protein-coupled receptors activation in rat trigeminal ganglion cells ○Kunioku Y ¹ , Kimura M ² , Ouchi T ² , Shibukawa Y ² , Fukuda K ¹ (Div Spec Needs Dent and Oracial Pain Dept Oral Health Clin Sci, Tokyo Dent Coll, ² Dept Physiol, Tokyo Dent Coll)
1-P2-PM19	Expression of the SARS-CoV-2 receptor ACE2 and proinflammatory cytokines induced by the periodontopathic bacteria in human respiratory epithelial cells ○Takahashi Y ^{1,2} , Yokoe S ^{2,3} , Watanabe N ^{2,3} , Kamio N ² , Imai K ² (Dept Complete Denture Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent, ² Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent, ³ Dept Periodontol, Nihon Univ Sch Dent)
1-P2-PM20	Immunological analysis of behavioral changes after periodontal disease infection in mice ○Kishikawa S ¹ , Nagao J ^{1,2} , Toyonaga K ¹ , Negoro K ¹ , Tanaka Y ^{1,2} (Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, ² Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll)
1-P2-PM21	Diversity analysis of genes encoding fimbrial components in <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Sakae K ^{1,2} , Nagano K ³ , Furuhashi M ⁴ , Hasegawa Y ¹ (Div Microbiol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, ² Div Endodont, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, ³ Div Microbiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ⁴ Div Pediatr Dent, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent)
1-P2-PM22	Pneumolysin-dependent dysfunction of the nasal epithelial barrier is involved in pneumococcal dissemination to brain tissue ○Takahara Y ^{1,2} , Sumitomo T ¹ , Yamaguchi M ¹ , Nakata M ³ , Kawabata S ¹ (Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, ² Dept Fixed Prosthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent, ³ Dept Oral Microbiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
1-P2-PM23	Antibacterial activity against <i>Enterococcus faecalis</i> by co-treatment with protamine and 3-methyl-4-isopropylphenol ○Abe Y (Dept Biochem, Meiji Univ Grad Sch Appl Chem)
1-P2-PM24	Effect of nisin A produced by <i>Lactococcus lactis</i> to <i>Clostridioides difficile</i> strains ○Ide N ^{1,3} , Kawada Matsuo M ² , Le M ² , Nishi H ³ , Komatsuzawa H ² (Dept Dent Edu, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci, ² Dept Bacteriol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci, ³ Dept Adv Gen Dent, Hiroshima Univ Hosp)
1-P2-PM25	Elucidation of the persister formation mechanism of <i>A. actinomycetemcomitans</i> ○Nakamura Y ^{1,2} , Yamasaki R ¹ , Ariyoshi W ¹ , Yoshioka Y ¹ (Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ, ² Div Pediatr Dent, Kyushu Dent Univ)
1-P2-PM26	Structural analysis of <i>Streptococcus pyogenes</i> hyaluronidase and <i>in silico</i> analysis based on structural models ○Higashi K ^{1,2} , Yamaguchi M ¹ , Nakata M ³ , Takebe K ⁴ , Sumitomo T ¹ , Suzuki M ⁵ , Kawabata S ¹ (Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, ² Dept Prosth Gerodont, Osaka Univ Grad Sch Dent, ³ Dept Oral Microbiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁴ Dept Oral Surg 2, Osaka Univ Grad Sch Dent, ⁵ Inst Protein Res, Osaka Univ)
1-P2-PM27	Gene rearrangement and modification patterns of immunity factors correlate with the insertion of bacteriocin cassettes in <i>Streptococcus mutans</i> ○Le M, Matsuo M, Komatsuzawa H (Dept Bacteriol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)
1-P2-PM28	Comprehensive analysis of bacteriocins in <i>Streptococcus mutans</i> ○Watanabe A ¹ , Kawada-Matsuo M ² , Le M ² , Komatsuzawa H ² (Dept Orthodont, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Dept Bacteriol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)
1-P2-PM29	Effect of initial periodontal therapy on the subgingival microbiome of patients with periodontitis ○Takakura E ¹ , Ishihara K ² (Tokyo Dent Junior Coll, Dent Hygiene, ² Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll)
1-P2-PM30	Comparison of the properties of <i>Candida albicans</i> derived from patients with oral candidiasis and without oral candidiasis ○Ouchi C ^{1,2} , Hasebe A ¹ (Dept Oral Mol Microbiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ² Dept Oral Diagn Med, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
1-P2-PM31	Identification of specific periodontal pathogens of oral squamous cell carcinoma patients ○Nakajima S ^{1,2,3} , Kioi M ³ (Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ² Dept Dev Regen Dent, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ³ Dept Oral Maxi Surg, Yokohama City Univ)
1-P2-PM32	Effects of FimA variations on biofilm formation by <i>Porphyromonas gulae</i> ○Yoshida S, Inaba H, Matsumoto-Nakano M (Dept Pediatr, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
1-P2-PM33	Effect of extracellular DNA for biofilm formation of <i>Actinomyces</i> by membrane vesicle of <i>Streptococcus mutans</i> ○Suzuki I ¹ , Iwabuchi Y ² , Senpuku H ³ (Dept Pediatr Dent, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ² Dept Pediatr Dent, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, ³ Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
1-P2-PM34	S-PRG filler on oral bacteria: Antibacterial effect and mechanism ○Kono Y ^{1,2} , Tamura M ^{3,4} , Imai K ^{3,4} (Div Oral Struct Funct Sci, Nihon Univ Grad Sch Dent, ² Dept Oral Maxillofac Surg, Div Oral Surg Nihon Univ Sch Dent, ³ Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent, ⁴ Div Immunol Pathobiol Res Cent, Nihon Univ Sch Dent)
1-P2-PM35	Trajectories of high prevalent oral bacteria during the first 36 months of life using next-generation sequencer ○Yama K ¹ , Aita Y ¹ , Inokuchi T ¹ , Ichiba Y ¹ , Jo R ² , Okuda T ² , Tsutsumi K ² , Morishima S ³ , Kakizawa Y ¹ (Adv Anal Sci Res Lab, LION Corp, ² Oral Care Res Lab, LION Corp, ³ The Lion Foundation for Dent Health)
1-P2-PM36	The effect of matcha green tea on <i>Streptococcus pneumoniae</i> ○Sasagawa K ^{1,2} , Domon H ^{1,3} , Hirayama S ¹ , Maekawa T ^{1,2,3} , Isono T ¹ , Hiyoshi T ^{1,2,3} , Tamura H ^{1,2} , Terao Y ^{1,3} (Div Microbiol Infect Dis, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Div Periodontol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ³ Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)
1-P2-PM37	Searching for genes regulating antibiotic tolerance in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ○Pahlevi M ¹ , Murakami K ² , Fujii H ¹ (Dept Oral Microbiol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, ² Kawasaki Univ Med Welfare)

1-P2-PM38	Effects of polyamines produced by <i>Porphyromonas gingivalis</i> on the metabolome and proliferation capacity of human gingival epithelial cells ○Iijima Y, Kuboniwa M, Sakanaka A, Takeuchi H, Mayumi M, Amano A (Dept Prevent Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent)
1-P2-PM39	Development of oral health assesment using saliva ○Takiguchi S ^{1,2} , Kuwata H ² , Morisaki H ² , Suzuki N ¹ , Itsumi M ² (¹ Div Endodont Dept Conserv Dent, Sch Dent Showa Univ, ² Dept Microbiol Immunol, Showa Univ Sch Dent)
1-P2-PM40	Differential antitumor effects of IFN-inducible chemokines CXCL9, CXCL10 and CXCL11 on mouse squamous cell carcinoma ○Matsumoto A ^{1,2} , Mori K ¹ , Hiroi M ² , Ohmori Y ² (¹ Div Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch Dent, ² Div Microbiol, Meikai Univ Sch Dent)
1-P2-PM41	Butyric acid in saliva of chronic periodontitis patients induces reactivation of EBV ○Watanabe N ^{1,2} , Yokoe S ^{1,2} , Sato S ¹ , Imai K ² (¹ Dept Periodont, Nihon Univ Sch Dent, ² Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent)
1-P2-PM42	Effect of serum starvation on head and neck cancer cell lines and prognostic association of starvation-induced genes ○Nishiyama K ¹ , Inaba H ² , Hamada M ¹ , Yoshida S ² , Matsumoto-Nakano M ² (¹ Dept Oral Surg 2, Osaka Univ Grad Sch Dent, ² Dept Pediatr, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
1-P2-PM43	Molecular mechanism of beta-glucan-induced suppression of NFATc1 expression in osteoclasts ○Koga A ^{1,2} , Yoshioka Y ² , Yamasaki R ² , Fujii W ¹ , Ariyoshi W ² (¹ Sch Oral Health Sci, Kyushu Dent Univ, ² Div Infect Mol Biol Dept Health Promot, Kyushu Dent Univ)
1-P2-PM44	<i>Porphyromonas gingivalis</i> gingipains potentially affects MUC5AC gene expression and protein levels in respiratory epithelial cells ○Yokoe S ¹ , Watanabe N ^{1,2} , Sato S ¹ , Imai K ² (¹ Nihon Univ Sch Dent, ² Dept Microbiol, Nihon Univ Sch Dent)
1-P2-PS01	A novel 3-dimensional culture system as an <i>in vitro</i> model for drug responsiveness of oral cancer ○Sato K ¹ , Ono K ² , Kawai H ³ , Kakano K ³ , Nagatsuka H ³ , Sasaki A ² (¹ Okayama Univ, Dent Sch, ² Dept Oral Maxillofac Surg Biopathol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ³ Dept Oral Pathol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
1-P2-PS02	Expression and functional analyses on CKAP4 in oral squamous cell carcinoma ○Kudo K ^{1,2} , Katase N ² , Fujita S ² (¹ Nagasaki Univ Dent Sch, ² Dept Oral Pathol Bone Metab, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
1-P2-PS03	Neuropathology in the mesencephalic trigeminal nucleus of Alzheimer's disease model mice and its effects on masticatory function ○Kitawaki A ¹ , Kuramoto E ¹ , Saito M ² , Yamanaka A ¹ , Iwawi H ¹ , Goto T ¹ (¹ Dept Anat Oral Sci, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Dept Oral Physiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
1-P2-PS04	(withdrawn)
1-P2-PS05	Altered distribution of podoplanin-reactive/PHOSPHO1-positive osteoblasts in murine femora with the high bone turnover ○Nakajima Y ^{1,2} , Yamamoto T ^{2,3} , Hongo H ² , Nasoori A ² , Amizuka N ² , Hasegawa T ² (¹ Sch Dent Med Hokkaido Univ, ² Dept Deve Biol Hard Tissue, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ³ JGSDF Camp Makomanai)
1-P2-PS06	<i>Porphyromonas gingivalis</i> impairs placental and fetal development through macrophage-derived extracellular vesicles ○Tanai A ¹ , Fukuhara Y ¹ , Eguchi T ² , Kawai H ³ , Ikegame M ¹ , Okamura H ¹ (¹ Dept Oral Morphol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent and Pharm Sci, ² Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ³ Dept Oral Pathol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)

(October 10, 12 : 10-13 : 10)

2-P1-P01	An investigation of the roles of the bulk autophagy on cellular metabolism in <i>C. albicans</i> ○Horie T ¹ , Nasu M ² (¹ Dept Oral Health, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, ² Res Cent for Odontol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
2-P1-P02	The discovery of novel energy metabolic pathways for oral <i>Veillonella</i> by the comparative Pan-genome analysis ○Mashima I ¹ , Nakazawa F ² , Kiyoura Y ¹ (¹ Dept Oral Med Sci Sch Dent, Ohu Univ, ² Dept Oral Biol Fac Dent, Univ Indonesia)
2-P1-P03	The Nitrite producing activity of oral <i>Neisseria</i> and the effect of environmental factors ○Washio J, Ezoe K, Sato S, Abiko Y, Komine Y, Shibata R, Tabana K, Mao X, Takahashi N (Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
2-P1-P04	Priming effects of zymosan on imiquimod-induced production of proinflammatory cytokines and interferon (IFN) beta ○Tamai R, Kiyoura Y (Dept Oral Med Sci, Ohu Univ Sch Dent)
2-P1-P05	<i>Porphyromonas gingivalis</i> standard strains revisited ○Saiki K, Urano-Tashiro Y, Yamanaka Y, Takahashi Y (Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
2-P1-P06	Insertional inactivation of <i>Prevotella intermedia</i> OxyR results in reduced survival with oxidative stress and in the presence of host cells ○Naito M, Shoji M (Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
2-P1-P07	Antibacterial effect and cell toxicity of titanium dioxide semiconductor connected with solar panels ○Sato T ¹ , Hamada N ² , Handa K ¹ (¹ Dept Oral Biochem, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ² Dept Oral Microbiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
2-P1-P08	De novo assembly of <i>Arachnia rubra</i> SK-1 ^T complete genome sequence ○Saito M, Shinozaki-Kuwahara N, Hashizume-Takizawa T, Kobayashi R, Senpuku H (Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
2-P1-P09	Evaluation of the effect of surface protein of <i>Treponema denticola</i> on motility ○Kokubu K, Kikuchi Y, Shibayama K, Ishihata K (Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll)

2-P1-P10	Construction of a conditional gene expression system in <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Shoji M, Naito M (Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
2-P1-P11	Effect of <i>Streptococcus sanguinis</i> on vascular endothelial dysfunction ○Hashizume-Takizawa T, Shinozaki-Kuwahara N, Saito M, Kobayashi R, Senpuku H (Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
2-P1-P12	Green tea-derived polyphenols inhibited inflammatory responses stimulated with <i>P. gulae</i> LPS ○Inaba H, Yoshida S, Matsumoto-Nakano M (Dept Pediatr, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
2-P1-P13	Evaluation of the efficacy of a denture cleanser using an in vitro denture plaque model ○Hamada S, Gomi M (Kobayashi Pharmaceu Co Ltd Central R&D Lab)
2-P1-P14	Investigation of distinguishing periodontitis and peri-implantitis using deep learning ○Watanabe T ¹ , Shiba T ² , Nakano Y ¹ (Dept Chem, Nihon Univ Sch Dent, ² Dept Periodontol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)
2-P1-P15	Bactericidal effects of fatty acid salts against oral bacteria and effects on <i>Streptococcus mutans</i> biofilm ○Kurahashi A ¹ , Watanabe K ² , Sato T ³ , Inaba K ¹ , Handa K ² , Hamada N ¹ (Dept Oral Microbiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ² Dept Lib Arts Educ, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ³ Dept Oral Biochem, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
2-P1-P16	Tongue microbiota and health-related conditions in elderly adults receiving day service ○Asakawa M ¹ , Takeshita T ^{1,2} , Kageyama S ¹ , Ma J ¹ , Yamashita Y ¹ (Sect Prevent Dent Public Health, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
2-P1-P17	Preliminary study on effects of nanobubble water on salivary microbiota ○Sagara K ¹ , Yoshida A ² , Ansai T ¹ (Div Community Health Dev, Kyushu Dent Univ, ² Dep Oral Microbiol, Matsumoto Dent Univ)
2-P1-P18	Effects of macrolide antibacterials on gene expression of <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Shinozaki-Kuwahara N ¹ , Hiratsuka K ² , Inaba K ³ , Hamada N ³ , Senpuku H ³ (Dept Microbiol Immunol Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ² Dept Biochem Mol Biol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ³ Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
2-P1-P19	Gene regulation of the T9SS component proteins in <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Yukitake H, Shoji M, Nakayama K, Naito M (Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
2-P1-P20	Identification of a new resistance factor against nukacins in <i>Streptococcus mutans</i> ○Matsuo M, Le M, Komatsuzawa H (Dept Bacteriol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)
2-P1-P21	Antifungal and drug resistance reverser effects of saliva protein ○Fukui K ¹ , Nakamura K ¹ , Hara H ¹ , Ninomiya K ^{1,2,3} , Kuwashima H ¹ , Imai A ^{4,5} (Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ at Niigata, ² Comprehensive Dent Niigata Hosp, Nippon Dent Univ, ³ Oral Maxillofac Surg, Niigata Hosp Nippon Dent Univ, ⁴ Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, ⁵ Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ at Niigata)
2-P1-P22	The dynamics of bacterial composition in peri-implant mucosa keratinized by free gingival grafting ○Shibasaki M ¹ , Shimogishi M ¹ , Watanabe T ² , Mrukawa E ¹ (Dept Regene Recon Dent Med, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Dept Chem, Nihon Univ Sch Dent)
2-P1-P23	Role of Dectin-1 in human cultured cells of oral cavity ○Inomata M ¹ , Sakagami H ² , Ohmori Y ¹ (Div Microbiol, Meikai Univ Sch Dent, ² Meikai Univ Sch Res Inst Odontol (M-RIO))
2-P1-P24	Analysis of immunostimulatory activity of lipid component from oral bacteria ○Toyonaga K ¹ , Nagao J ^{1,2} , Kishikawa S ¹ , Tanaka Y ^{1,2} (Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, ² Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll)
2-P1-P25	Investigation of immune regulatory mechanism controlling the development of periodontitis ○Nagao J ^{1,2} , Kishikawa S ¹ , Toyonaga K ¹ , Negoro-Yasumatsu K ¹ , Tasaki S ¹ , Tanaka Y ^{1,2} (Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, ² Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll)
2-P1-P26	Effect of <i>Fusobacterium nucleatum</i> on the intestinal immune system in the murine model ○Toda M ¹ , Kobayashi R ² , Kono T ³ , Watanabe A ³ , Tamamura R ³ , Senpuku H ² , Okada H ³ (Nihon Univ Grad Sch Dent at Matsudo, ² Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ³ Dept Histol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
2-P1-P27	Effect of midazolam on the IL-10 production in stimulated mouse splenocytes ○Kamiya M ¹ , Takayama E ² , Kawaki H ² , Umemura N ² , Ueno K ² , Takahashi M ³ , Chihara E ⁴ , Muramastu Y ³ , Kondoh N ² (Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin, ² Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, ³ Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent, ⁴ Dept Gen Med, Asahi Univ Sch Health Sci)
2-P1-P28	Investigation of chemokines involved in the infiltration of myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) in the mouse tongue cancer model ○Mori K ¹ , Hiroi M ² , Matsumoto A ¹ , Ushio R ¹ , Ohmori Y ² (Div Oral Maxillofac Surg Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent, ² Div Microbiol and Immunol, Dept Oral Biol Tissue Eng, Meikai Univ Sch of Dent)
2-P1-P29	Analysis of changes in responsiveness to periodontopathic bacterial LPS and gene expression of LPS-recognizing platforms by priming of THP-1 cells ○Kataoka H, Mori T, Into T (Dept Oral Microbiol Div Oral Infect Health Sci, Asahi Univ Sch Dent)
2-P1-P30	Analysis of a periodontal disease mouse model to elucidate periodontal-related diseases ○Kobayashi R, Takizawa K, Saito M, Kuwahara N, Senpuku H (Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
2-P1-P31	Existence of SARS-CoV-2 entry molecules in the oral cavity ○Sakaguchi W ¹ , Saruta J ² , Yamamoto Y ³ , Tsukinoki K ¹ (Dept Env Pathol, Kanagawa Dent Univ, ² Dept Educ Planning, Kanagawa Dent Univ, ³ Dept Dent Hygiene, Kanagawa Dent Univ Junior Coll)

2-P1-P32	Desmosomal protein Plakophilin 1 translocates into nucleus via its nuclear localization signal and regulates cell proliferation ○Miyazaki K ¹ , Yoshizaki K ¹ , Fu Y ¹ , Funada K ¹ , Yuta T ¹ , Tian T ¹ , Mizuta K ¹ , Kawahara J ¹ , Fukumoto S ² , Takahashi I ¹ (¹ Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
2-P1-P33	Feeding-dependent activation of mechanistic target of rapamycin (mTOR) in mouse taste bud cells ○Takai S ¹ , Iwata S ^{1,2} , Sanematsu K ^{1,2,3} , Shigemura N ^{1,2} (¹ Sect Oral Neurosci, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² R and D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ, ³ OBT Cent Kyushu Univ)
2-P1-P34	Induction of gingival tissue regeneration by Platelet-Rich Fibrin ○Liu YH ¹ , To M ¹ , Takahashi S ² , Takahashi SS ³ , Matsuo M ¹ (¹ Dept Oral Anat, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ² Dept Oral Physiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ³ Dept Pharmacol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
2-P1-P35	The induction of parathyroid cell differentiation from human iPS cells and approach to the mechanism of parathyroid hyperplasia ○Nakatsuka R, Nozaki T (Dept Pharmacol, Osaka Dent Univ)
2-P1-P36	Correlation of MAPK-phosphorylation and change of cleft palate phenotypes caused by administration of an EGFR inhibitor in TGFβ3 knockout mice ○Sugiyama A, Takigawa T (Dept Oral Anat Div Oral Struct, Funct Dev, Asahi Univ Sch Dent)
2-P1-P37	Disrupted formation/migration of cranial NCCs contributes to dysplasia of functional neural network, suggesting to effect disordered feeding behavior with DD ○Suzuki R ¹ , Imai H ² (¹ Div Dent Pharmacol, Ohu Univ Sch Dent, ² Div Biol, Ohu Univ Sch Dent)
2-P2-P38	NFAT5 promotes OSCC progression in the hyper-osmotic condition through the EGFR subcellular translocation ○Yoshimoto S ^{1,2} , Hirata M ² , Hashimoto S ¹ (¹ Div Pathol, Fukuoka Dent Coll, ² Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll)
2-P2-P39	Three-dimensional morphological and immunohistochemical analyses in oral cancer spheroids grown on low-attachment culture devices ○Kudo T, Hani T, Kawamoto S, Sato K, Taya Y, Soeno Y (Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
2-P2-P40	Regulation of cytokine production from anti CD3-stimulate mouse spleen cells by Chinese propolis ○Ando M ¹ , Kamiya M ² , Ikeno K ³ , Ueno K ¹ , Umemura N ¹ , Takayama E ¹ , Kawaki H ¹ , Nakamura G ³ , Kondoh N ¹ (¹ Dept Oral Biochem Div Oral Struct, Funct Dev Asahi Univ Sch Dent, ² Dept Business Admin Asahi Univ Sch Management, ³ AKITAYAMAHONTEN CO., LTD. R&D Department)
2-P2-P41	Cytotoxic effects of combination treatment with DNA methyltransferase inhibitors and histone deacetylase inhibitors on human oral squamous cell carcinoma cells ○Ushio R ^{1,2} , Hiroi M ² , Matsumoto A ^{1,2} , Mori K ^{1,2} , Ohmori Y ² (¹ Div Oral Maxillofac Surg Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent, ² Div Microbiol, Meikai Univ Sch Dent)
2-P2-P42	YAP-PIEZO1 axis promotes cell proliferation of oral squamous cell carcinoma ○Hasegawa K, Fujii S, Kiyoshima T (Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
2-P2-P43	Cancer stem cells versus iPS cells ○Hata R ¹ , Izukuri K ² , Maehata Y ³ (¹ Res Support Cent, Kanagawa Dent Sch, ² Dept Oral Biochem, Kanagawa Dent Sch, ³ Dept Pharmacol, Kanagawa Dent Sch)
2-P2-P44	Transcription factor TFAP2E is involved in the regulation of G2/M transition in oral squamous cell carcinoma ○Fujiwara K ¹ , Sakai R ³ , Takahashi T ^{1,2} (¹ Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent, ² Div Funct Morphol Dent Res Cent, Nihon Univ Sch Dent, ³ Div Appl Oral Sci, Nihon Univ Grad Sch Dent)
2-P2-P45	CCN6 suppresses epithelial-mesenchymal transition of oral cancer cells and osteoclast formation ○Hochi H ¹ , Nishida T ^{1,2} , Takigawa M ² , Kubota S ¹ (¹ Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ² ARCOCS, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
2-P2-P46	New Near-infrared photoimmunotherapy for EGFR over expressing salivary gland cancer ○Yamaguchi H, Morita T (Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata)
2-P2-P47	(withdrawn)
2-P2-P48	PI3K/Akt/mTOR signaling interacts with dose-dependent biphasic effects of glycine on vascular development ○Tsuji-Tamura K, Sato M, Tamura M (Dept Oral Biochem Mol Biol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
2-P2-P49	Effects of microglial inhibition on neuropathic pain ○Terayama R, Uchibe K (Dept Maxillofac Anat & Neurosci, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)
2-P2-P50	Acute nociceptivity-induced spontaneous pain representation in mice insular cortex ○O'Hashi K, Kobayashi S, Kobayashi M (Nihon Univ Sch Dent)
2-P2-P51	Treadmill running exercises induce microglial alterations in the C2 region following social defeat stress in mice ○Hasegawa M ¹ , Yamamura K ² , Fujii N ¹ (¹ Gen Dent Clin Educ Unit, Niigata Univ Med Dent Hosp, ² Div Oral Physiol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)
2-P2-P52	Long-time general anesthesia with sevoflurane induces apoptosis in hippocampal neurons of 14-day-old mice ○Okumura Y ¹ , Nagai A ² , Ikeda Y ² (¹ Div Anesthesiol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, ² Div Anat, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent)
2-P2-P53	Behavioral analysis of tranexamic acid-induced nausea in rats ○Fujita M, Inui T, Yoshizawa T, Funahashi M (Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
2-P2-P54	GABA _B receptors induce long-term potentiation in the insular GABAergic synapses ○Yamamoto K ¹ , Chikira M ^{1,2} , Kobayashi M ¹ (¹ Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent, ² Dept Anesthesiol, Nihon Univ Sch Dent)

2-P2-P55	Investigation of the mechanism of cognitive dysfunction induced by periodontal infection under obesity ○Que K ¹ , Yamawaki Y ² , Kanematsu T ³ (¹ Dent Anesthesiol, Hiroshima Univ Hosp, ² Lab Adv Pharmacol, Daiichi Univ Pharm, ³ Sect Aging Sci Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
2-P2-P56	Effect on mitochondria by periodontal disease-derived LPS treatment in PC-12 cells ○Tomita K, Igarashi K, Sato T (Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
2-P2-P57	Adaptive change in the low-threshold jaw-opening reflex depends on the learning memory acquired by the first biting in the initial cycle of mastication ○Matsunaga T, Morita T, Yokota T, Hiraba K (Div Physiol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent)
2-P2-P58	Conditioned medium from the dental pulp stem cells ameliorates neuropathic pain in mouse partial sciatic nerve ligation models ○Kano F ¹ , Liu Y ^{1,2} , Hashimoto N ¹ , Matsuka Y ³ , Tanaka E ² , Yamamoto A ¹ (¹ Dept Anat Histol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, ² Dept Orthod Dentofac Orthop, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, ³ Dept Stomatognath Func Occl Reconst, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)
2-P2-P59	Expression and functional analysis of hepcidin in the trigeminal ganglion of the oral ulcerative mucositis rat model ○Hitomi S ^{1,2} , Shinoda M ¹ , Ono K ² (¹ Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent, ² Div Physiol, Kyushu Dent Univ)
2-P2-P60	Effects of topical application of TRP channel antagonists to gingival surface on experimental tooth movement-induced jaw opening reflex excitation ○Yugawa M ¹ , Suda N ¹ , Adachi K ² (¹ Div Orthod Dept Human Dev Foster, Meikai Univ Sch Dent, ² Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent)
2-P2-P61	A study of the relationship between three-dimensional somatotopy of the rat trigeminal ganglion and ectopic pain ○Kuramoto E ¹ , Fukushima M ¹ , Iwai H ¹ , Yamanaka A ¹ , Sugimura M ² , Goto T ¹ (¹ Dept Anat Oral Sci, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Dept Dent Anesthesiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
2-P2-P62	Changes in taste preference in mice with metallothionein-1 and 2 deficiencies ○Yasuura N ^{1,2} , Inui T ¹ , So S ¹ , Yoshizawa T ¹ , Sogawa N ³ , Funahashi M ¹ (¹ Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ² Dept Orthodont, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ³ Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ)
2-P2-P63	Do the mixing of the thickeners and taste substances change taste nerve responses? ○Nakamura F ¹ , Maeda C ² , Yasuo T ¹ , Suwabe T ¹ , Gen K ² , Sako N ¹ (¹ Dept Oral Physiol Div Oral Funct Sci Rehabil, Asahi Univ Sch Dent, ² Dept Dent for the Disabled Asahi Univ Sch Dent)
2-P2-P64	The enhancement mechanism of sour taste perception by flecainide in mice ○Kawabata Y ¹ , Takai S ¹ , Yoshida R ² , Sanematsu K ^{1,3} , Shigemura N ^{1,3} (¹ Sect Oral Neurosci, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² Dept Oral Physiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ³ R&D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ)
2-P2-P65	Effects of the application of root canal irrigation solutions to tongue on the neural responses to 4 basic taste substances in rats ○Yamazaki M ¹ , Tanaka M ¹ , Sako N ² , Kawano S ¹ (¹ Dept Endodont Asahi Univ Sch Dent, ² Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent)
2-P2-P66	Receptive field characteristics of rat lingual nerve/trigeminal ganglion neurons innervating fungiform papillae ○Sato H, Adachi K (Div Pharmacol Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent)
2-P2-P67	Expression of ACE2, TMPRSS2 and neuropilin-1 in rat geniculate ganglion cells ○Suwabe T, Yasuo T, Sako N, Nakamura F (Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent)
2-P2-P68	The mechanism for sweet suppressive effect of leptin in sweet sensitive taste cells ○Yoshida R (Dept Oral Physiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
2-P2-P69	Evaluation of peripheral neuropathy of proteasome inhibitor ○Iijima Y ¹ , Yamada M ¹ , Sano M ² , Horie N ¹ , Kaneko T ¹ , Sakagami H ³ (¹ Dept Oral Maxillofac Surg Saitama Med Univ Saitama Med Cent, ² Div Appl Pharmaceut Educ Res, Hoshi Univ, ³ Meikai Univ Res Inst Odontol)
2-P2-P70	Adrenomedullin increases mouse chorda tympani nerve responses to sugars via T1R-independent mechanisms ○Iwata S ^{1,3} , Yoshida R ² , Takai S ¹ , Sanematsu K ^{1,3} , Shigemura N ^{1,3} , Ninomiya Y ⁴ (¹ Sect Oral Neurosci, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² Dept Oral Physiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ³ Div Sensory Physiol Med Appl sensing R&D Cent for Five-Sense Device Kyushu Univ, ⁴ Monell Chemical Senses Center)

(October 11, 12 : 10-13 : 10)

3-P1-P71	Effects of soft diet on the hypothalamus and hippocampus of young mice ○Furukawa M, Shikama Y, Matsushita K (NCGG ODR)
3-P1-P72	MyD88 is involved in expression of IFN-regulated genes in salivary glands of female non-obese diabetic (NOD) mice ○Mori T, Kataoka H, Into T (Dept Oral Microbiol Div Oral Infect Health Sci, Asahi Univ Sch Dent)
3-P1-P73	Immunohistological analysis of small intestinal tuft cells in osteogenic disorder rat ○Yasuo T, Suwabe T, Nakamura F, Sako N (Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent)
3-P1-P74	Effect of S-PRG filler eluate on MMP secretion in TNF- α -stimulated human gingival fibroblasts ○Inoue H, Mao D, Goda S (Dept Physiol, Osaka Dent Univ)
3-P1-P75	BMP9 induces HIF-1 α protein expression in osteoblasts through PI3K-Akt axis ○Matsuguchi T, Chiba N, Ohnishi T (Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)

3-P1-P76	Nephronectin gene expression is suppressed by phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) via PKC signaling pathway ○Kinoshita M, Yamada A, Kamijo R (Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent)
3-P1-P77	The neuropeptide VIP-VPAC2 signaling is a novel mechanism of regulating tumor cell migration ○Asano S, Ago Y (Dept Cell Mol Pharmacol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)
3-P1-P78	The involvement of serine 534 phosphorylation of NF- κ B, p65 in the bone loss and obesity in ovariectomized mice ○Huang F ¹ , Gao J ¹ , Jimi E ^{1,2} (¹ Sect Mol Cell Biochem Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
3-P1-P79	Promoter analysis for human <i>TAS1R1</i> umami receptor gene in the human fungiform taste cells ○Toyono T, Matsuyama K, Kataoka S, Seta Y (Div Anat, Kyushu Dent Univ)
3-P1-P80	The molecular mechanism of <i>Porphyromonas gingivalis</i> gingipains-induced COX-2 expression via the calcium channels ○Nakayama M ^{1,2} , Naito M ³ , Nakayama K ² , Ohara N ^{1,2} (¹ Dept Oral Microbiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ² ARCOCS Okayama Univ Dent Sch, ³ Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
3-P1-P81	Protection of aspiration pneumonia via the peripheral vestibular stimulation ○Abe C (Dept Physiol, Gifu Univ Grad Sch Med)
3-P1-P82	Study on overexpression of SGLT2 in the kidney of a <i>P. gingivalis</i> LPS-induced diabetic nephropathy mouse model ○Kajiwara K ¹ , Sawa Y ² (¹ Div Orthodont, Fukuoka Dent Coll, ² Dept Oral Funct Anat, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
3-P1-P83	Basic study for establishment of stomatitis animal model ○Takeuchi R ¹ , Matsumoto H ² , Hiratsuka K ¹ (¹ Dept Biochem Mol Biol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ² Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
3-P1-P84	Identification of microRNA regulated by CCL19-CCR7 signaling in adipose tissue inflammation ○Sano T ¹ , Elsheikh M ¹ , Mizokami A ² , Kanematsu T ¹ (¹ Sect Aging Sci Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
3-P1-P85	Effect of glucose taste on mastication and salivary amylase activity in humans ○Yasumatsu K (Tokyo Dent Junior Coll)
3-P1-P86	p130Cas is involved in the development of granular convoluted tubule of submandibular gland in mice ○Li AN ¹ , Gao J ¹ , Fujii S ² , Kiyoshima T ² , Jimi E ^{1,3} (¹ Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ² Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, ³ OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
3-P1-P87	Selective transport efficiency of HaloTag-fused secretory proteins in parotid acinar cells ○Fujita-Yoshigaki J, Yokoyama M, Katsumata-Kato O (Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
3-P1-P88	Gramicidin-perforated patch recording reveals the involvement of SGLT1 activities in maintaining Cl ⁻ secretion from submandibular acinar cells ○Sugita M (Dept Physiol Oral Physiol, Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci)
3-P1-P89	Involvement of alteration of CD36 expression on salivary secretion in senescence-accelerated mouse parotid gland ○Sato K ¹ , Ohno Y ² , Nagase H ² , Kashimata M ² , Adachi K ¹ (¹ Div Pharmacol Dept Diagn Ther Sci, Meikai Univ Sch Dent, ² Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent)
3-P1-P90	Role of BMP2 expressed by injured salivary gland ○Yokoyama M, Katsumata-Kato O, Fujita-Yoshigaki J (Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
3-P1-P91	Oral intake of short-chain fatty acids on salivary glands and salivary IgA levels ○Yamamoto Y ¹ , Saruta J ² , Sakaguchi W ³ , To M ⁴ , Tsukinoki K ³ (¹ Dept Junior Coll Kanagawa Dent Univ Sch Dent Hygiene, ² Dept Educ Plan, Kanagawa Dent Univ, ³ Dept Env Pathol, Kanagawa Dent Univ, ⁴ Dept Oral Anat, Kanagawa Dent Univ)
3-P1-P92	Relationship between maturation of secretory granule and relative activity of amylase in rat parotid glands ○Katsumata-Kato O, Yokoyama M, Fujita-Yoshigaki J (Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
3-P1-P93	Effects of a liquid diet on growth of nerve in parotid glands of growing rats ○Takahashi S, Yamamoto T (Dept Oral Funct Anat, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
3-P1-P94	Involvement of β -arrestin signaling on gene expression induced by stimulation with pilocarpine ○Morita T ¹ , Nezu A ² , Yamaguchi H ¹ , Sato R ^{1,3} , Tanimura A ² (¹ Dept Biochem Nippon Dent Univ at Niigata, ² Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ³ Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ Coll at Niigata)
3-P1-P95	Mechanism of acetylcholine-induced tissue-wide synchronization of Ca ²⁺ and blood flow oscillations in rat submandibular gland ○Nezu A ¹ , Morita T ² , Ishii H ³ , Tanimura A ¹ (¹ Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ² Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, ³ Div Physiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
3-P1-P96	Development of immobilization method of low-concentration sensor protein on biosensor support using avidin-biotin bindings ○Semba S, Jahan A, Tanimura A (Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
3-P1-P97	Analysis of the origin of cementum based on marine reptile mosasaurus fossils ○Mishima H ¹ , Chiba T ² , Miake Y ³ (¹ Dept Dent Eng, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Res Cent Elec Microsc, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³ Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
3-P1-P98	Microvascular changes and bone formation after Alveolar bone graft ○Matsuo M, Liu Y, Matsuo M, To M (Dept Oral Anat, Kanagawa Dent Univ)

3-P1-P99	Effect of macrophage depletion on the healing process after tooth extraction in mice ○Horibe K, Nishida D, Nakamura H (Dept Oral Anat, Matsumoto Dent Univ)
3-P1-P100	Hypoxia-induced inflammatory cytokines in PDL indirectly progress Alzheimer' disease ○Tsumumi T ¹ , Kajiji H ² , Maeshiba M ³ , Goto K ⁴ , Okabe K ² (Div Gen Dent, Fukuoka Dent Coll, ² Div Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll, ³ Div Removal Prosthodont, Fukuoka Dent Coll, ⁴ Div Dent Hygiene, Fukuoka Dent Coll)
3-P1-P101	Microcirculation changes and bone regeneration incident to application of platelet rich-fibrin (PRF) ○Matsuo M, Okudera T, To M, Matsuo M (Dept Oral Anat, Kanagawa Dent Univ)
3-P1-P102	Correlation between estrogen level and periodontal disease progression in OVX rats ○Amano K ¹ , Inaba K ² , Matsuo M ³ (Dept Anat, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ² Div Microbiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ³ Div Oral Anat, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
3-P1-P103	Effects of adenyl cyclase inhibition on cardiac dysfunction in mice treated with <i>Porphyromonas gingivalis</i> LPS ○Tsunoda M ¹ , Ohunuki Y ² , Suita K ² , Matsuo I ¹ , Hayakawa Y ³ , Kiyomoto K ¹ , Morii A ¹ , Nariyama A ¹ , Gomi K ¹ , Okumura S ² (Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³ Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁴ Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
3-P1-P104	Properties of fucoidan sulfated polysaccharides that support clinical efficacy ○Oka S ¹ , Imai A ^{2,3} (Dept Biol, Nippon Dent Univ at Niigata, ² Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, ³ Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ Coll at Niigata)
3-P1-P105	Inhibition of xanthine oxidase protects heart from <i>Porphyromonas gingivalis</i> lipopolysaccharide-induced cardiac dysfunction ○Morii A ¹ , Suita K ² , Matsuo I ¹ , Ito A ³ , Kiyomoto K ¹ , Tsunoda M ¹ , Nariyama M ⁴ , Ohnuki Y ² , Gomi K ¹ , Okumura S ² (Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³ Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁴ Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
3-P2-P106	Immunohistochemical localization of CD146 during dentin formation and regeneration ○Shibui T ¹ , Hosoya A ² , Takebe H ² , Takahashi M ¹ , Irie K ¹ (Div Anat, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, ² Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
3-P2-P107	Developmental assessment on the cusp homologies between the premolar and the molar ○Haider Y ^{1,2} , Iwai H ¹ , Kuramoto E ¹ , Goto T ¹ , Nakamura N ² , Yamanaka A ¹ (Dept Anat Oral Sci, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Dept Oral Maxillofacial Surg, Kagoshima Univ Grad Sch of Med Dent Sci, ³ Dept Anthropol, Natl Museum of Nature & Sci)
3-P2-P108	Plasma membrane Ca ²⁺ -ATPase in human and rat odontoblasts regulates dentin mineralization ○Kimura M ¹ , Ouchi T ¹ , Satou R ² , Kokubu E ³ , Kuroda H ^{1,4} , Ando M ¹ , Kono K ¹ , Nomura S ¹ , Shibukawa Y ¹ (Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, ² Dept Epidemiol Public Health, Tokyo Dent Coll, ³ Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll, ⁴ Dept Dent Anesthesiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
3-P2-P109	The effect of intentionally perforating the floor of pulp chamber on pulpal healing after tooth replantation in mice ○Sano H ^{1,2} , Nakakura-Ohshima K ³ , Okada Y ² , Sato T ¹ , Ohshima H ⁴ (Div Clin Chem, Niigata Univ Grad Sch Health Sci, ² Dept Pathol, Nippon Dent Univ at Niigata, ³ Div Pediatr Dent, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, ⁴ Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)
3-P2-P110	Histopathological study of hard tissue induced by Mineral trioxide aggregate ○Miyamoto Y ¹ , Kihō K ² , Matsuoka T ¹ , Nakao J ¹ , Ehara M ¹ , Ochiai T ¹ , Kawano S ² , Nagayama M ¹ (Dept Oral Pathol Div Oral Phogenesis Dis Control, Asahi Univ Sch Dent, ² Dept Endodont, Div Oral Funct Sci Rehabil, Asahi Univ Sch Dent)
3-P2-P111	Root caries model: Acid-induced activation of endogenous proteases embedded in root surfaces ○Sakurai I ^{1,2} , Mayanagi G ^{1,3} , Yamada S ² , Takahashi N ¹ (Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ² Dept Periodontol Endodont, Tohoku Univ Grad Sch Dent, ³ Div Adv Educ Dev Liaison Cent Innov Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
3-P2-P112	Micro-FTIR observation of carious dentine stained with silver staining method ○Kuwada-Kusunose T ¹ , Watanabe A ² , Fuse M ³ , Kusunose A ⁴ (Dept Lib Arts Biol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ² Dept Histol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ³ Dept Lib Arts Chem, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ⁴ Kusunose Dental Clinic at Otsuka)
3-P2-P113	Study of the acid resistance of enamel after removal of orthodontic brackets ○Kanri Y ¹ , Hasegawa Y ² (Dept Pathol, Nippon Dent Univ at Niigata, ² Dept Dent Hygiene, The Nippon Dent Univ Coll at Niigata)
3-P2-P114	Correlations between prevalence of dental caries and circadian rhythms in children ○Nishide S ¹ , Yawaka Y ² (Dept Physiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Rehab, ² Dept Dent Child Disabled Person, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
3-P2-P115	Impaired endochondral ossification in Keap1-deficient mice: observation by X-ray μ CT and atmospheric scanning electron microscopy in liquid ○Sakai E ¹ , Sato C ² , Sato M ² , Farhana F ¹ , Tsukuba T ¹ (Dept Dent Pharmacol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, ² Health Med Res, Inst Natl Inst, Adv Indust Sci Tech (AIST))
3-P2-P116	Structural characteristics of capybara's femora ○Kasahara N ¹ , Kikuchi N ¹ , Ogawa Y ¹ , Kitamura K ¹ , Matsunaga S ² , Abe S ² , Yamamoto H ¹ (Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll, ² Dept Anat, Tokyo Dent Coll)
3-P2-P117	Expression characteristics of heterozygous Dgcr2 gene in murine chondrocytes from 22q11.2 deletion syndrome model ○Kajiwara K (Dept Mol Sci, Tokai Univ Sch Med)
3-P2-P118	Effect of TGF- β on bone resorption of osteoclasts ○Karakida T, Chiba-Ohkuma R, Yamakoshi Y (Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
3-P2-P119	Bone quality of peri-implant osteonal bone ○Matsunaga S ¹ , Kasahara N ² , Kitamura K ² , Ogawa Y ² , Hirouchi H ¹ , Yamamoto H ² , Abe S ¹ (Dept Anat, Tokyo Dent Coll, ² Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll)
3-P2-P120	Regulatory mechanism of osteocytes in response to mechanical stress ○Fujita N ^{1,2} , Tsuji-Tamura K ² , Tamura M ² , Sato M ² (Dept Dent Anesthesiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, ² Dept Oral Biochem Mol Biol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)

3-P2-P121	CGRP inhibits osteoclast differentiation through induction of Bcl6 and MafB negative regulators of osteoclast differentiation ○Ishizuka K (Div Pharmacol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent)
3-P2-P122	Hypoxia affects osteoblast differentiation ○Chiba N ¹ , Seong C ² , Ohnishi T ¹ , Matsuguchi T ¹ (¹ Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, ² Dept Oral Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
3-P2-P123	Anxa5 KO mice show jaw bone overgrowth, excessive tooth attrition and masseter muscles hypertrophy ○Ideno H ¹ , Mochizuki A ² , Komatsu K ¹ , Nakashima K ¹ , Amemiya T ³ , Arai Y ² , Inoue T ² , Nifuji A ¹ (¹ Dept Pharmacol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent, ³ Dept Oral Maxillofac Radiol, Nihon Univ Sch Dent)
3-P2-P124	Localization of integrin alpha 2 in septoclasts in mouse tibial epiphyseal plates ○Bando Y ¹ , Onozawa G ^{1,2} , Nagasaka A ¹ , Sakiyama K ¹ , Amano O ¹ (¹ Div Anat, Meikai Univ Sch Dent, ² Div Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch Dent)
3-P2-P125	A Clinical Study of the Effect of Rapid Maxillary Expansion on Nasal obstruction ○Nakamura C ^{1,2} , Suemitsu M ³ , Taguchi C ⁴ , Nakayama M ² , Kuyama K ³ (¹ Dept Oral Pathol, Nihon Univ Grad Sch Dent at Matsudo, ² Chiori Dent Clinic, ³ Dept Oral Pathol Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, ⁴ Dept Microbiol & Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
3-P2-P126	Role of renin-angiotensin system for the development of cardiac fibrosis induced by periodontopathic bacteria LPS ○Kiyomoto K ¹ , Suita K ² , Oonuki Y ² , Matsuo I ¹ , Tsunoda M ¹ , Morii A ¹ , Itou A ³ , Ishikawa M ⁴ , Okumura S ² , Gomi K ¹ (¹ Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³ Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁴ Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
3-P2-P127	Roles of high mobility group box 1 (HMGB1) in the necrosis and regeneration of myofibers ○Sakiyama K ¹ , Onozawa G ^{1,2} , Nagasaka A ¹ , Bando Y ¹ , Amano O ¹ (¹ Div Anat, Meikai Univ Sch Dent, ² Div First Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch Dent)
3-P2-P128	Role of microphthalmia-associated transcription factor on oxidative stress in masseter muscle ○Nariyama M ¹ , Ohnuki Y ² , Suita K ² , Ito A ³ , Ishikawa M ⁴ , Matsuo I ⁵ , Hayakawa Y ⁶ , Asada Y ¹ , Okumura S ² (¹ Dept Pediatr, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³ Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁴ Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁵ Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁶ Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
3-P2-P129	Occlusal anomalies myocardial apoptosis by the renin-angiotensin system ○Ito A ¹ , Ohnuki Y ² , Suita K ² , Ishikawa M ³ , Matsuo I ⁴ , Hayakawa Y ⁵ , Nariyama M ⁶ , Tomonari H ¹ , Okumura S ² (¹ Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ² Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ³ Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁴ Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁵ Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, ⁶ Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
3-P2-P130	Superior labial artery and vein anastomosis configuration to be considered in lip augmentation ○Yamamoto M ¹ , Takagi T ¹ , Yamamoto Y ¹ , Hirouchi H ¹ , Sakiyama K ² , Abe S ¹ (¹ Dept Anat, Tokyo Dent Coll, ² Div Anat, Meikai Univ)
3-P2-P131	Effect of the application of carbonate apatite granule graft on microvascularization in regeneration of alveolar bone ○To M, Matsuo M, Liu YH, Matsuo M (Dept Clin Oral Anat, Kanagawa Dent Univ)
3-P2-P132	Application of multi-directionally forged high-strength titanium to dental implants ○Takarabe Y ¹ , To M ² , Hoshi N ¹ , Kimoto K ¹ , Matsuo M ² (¹ Dept Fixed Prosthodont, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, ² Dept Oral Anat, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
3-P2-P133	Construction of a new swallowing mechanism derived from histological structure analysis of the pre-epiglottic space ○Kitamura K ¹ , Kikuchi N ¹ , Ogawa Y ¹ , Kasahara N ¹ , Matsunaga S ² , Yamamoto M ² , Abe S ² , Yamamoto H ¹ (¹ Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll, ² Dept Anat, Tokyo Dent Coll)
3-P2-P134	Anatomical and histological analysis of regenerating tissues after jaw amputation in adult newt ○Taya Y, Kawamoto S, Hani T, Kudo T, Sato K, Soeno Y (Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)