

# 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 (L)

歯科基礎医学会学会奨励賞受賞講演 (JR)

教育講演 (ES)

メインシンポジウム (MS1~MS4)

歯科イノベーションロードマップシンポジウム (IRS)

日本学術会議シンポジウム (SCJS)

先端歯学国際教育研究ネットワークシンポジウム (AD)

アップデートシンポジウム (US1~US6)

一般演題 (口演)

一般演題 (ポスター)

---

---

## ■ ロッテ基金特別講演 1

Special lecture accorded by the LOTTE Foundation 1

『スーパーコンピューターと生命科学』

SL1 松岡 聡

(理化学研 計算科学研究セ)

「Society 5.0 におけるスーパーコンピューター富岳  
の医療・創薬への貢献」

オーガナイザー：馬場 麻人 (徳大 院医歯薬 口腔顎顔面形態)

日時：9月17日(土) 14:30~15:40

会場：A 会場 (大塚講堂大ホール)

## ■ ロッテ基金特別講演 2

Special lecture accorded by the LOTTE Foundation 2

『がんの克服に向けて ~次世代がん研究からのアプローチ』

SL2-1 小林 久隆

(米国国立がん研 分子イメージング)

「がんの近赤外光線免疫療法 (光免疫療法)」

SL2-2 中山 敬一

(九大 生体防御医学研 分子医科)

「次世代プロテオミクスが拓く医学生物学の新地平：  
100 年来のがん代謝の謎を解く」

オーガナイザー：山本 朗仁 (徳大 院医歯薬 組織再生制御)

工藤 保誠 (徳大 院医歯薬 口腔生命科学)

日時：9月18日(日) 13:00~15:00

会場：A 会場 (大塚講堂大ホール)

## ■ ライオン学術奨励賞

Lecture by JAOB/Lion Dent Research Awards Winner

L-1 加藤 隆史

(阪大 院歯 高次脳口腔機能 口腔生理)

「睡眠時ブラキシズムの病態生理機構の解明」

オーガナイザー：井上 富雄 (歯科基礎医学会 理事長/昭大 歯  
口腔生理)

日時：9月18日(日) 15:10~15:40

会場：A 会場 (大塚講堂大ホール)

## ■ 歯科基礎医学会学会奨励賞受賞講演

Lectures by JAOB/Rising Members Award Winner

JR-1 奥舎 有加 (ハーバード大 医)

座長：二藤 彰 (鶴大 歯 薬理)

「高転移性癌細胞由来の細胞外小胞に搭載された MMP3 による Ctgf/Ccn2 発現調節機能と癌転移促進」

JR-2 長谷川佳那 (九大 院歯 口腔病理)

座長：清島 保 (九大 院歯 口腔病理)

「YAP-PIEZO1 シグナルは口腔扁平上皮癌の細胞増殖を促進する」

JR-3 齊藤 まり (鶴大 歯 分子生化)

座長：宇田川信之 (松歯大 生化)

「ジルコニアとアパタイトのナノレベル直接結合が示すオッセオインテグレーション」

日時：9月18日(日) 15:40~16:20

会場：A 会場 (大塚講堂大ホール)

## ■ 教育講演

### Educational special lecture

#### 『若手研究者のための Author Workshop』

ES-1 大島 勇人

(新潟大 院医歯 顎顔面再建 硬組織形態)

#### 「若手研究者のための英語論文アブストラクトとカバーレターの書き方・転載許諾について」

座長：美島 健二 (昭大 歯 口腔病態診断 口腔病理)

日時：9月19日(月) 12:30~14:00

会場：B会場(歯学部講堂)

## ■ メインシンポジウム

### Main symposium

#### メインシンポジウム1

#### 「歯科再生医療の実現への道を紡ぐ最先端再生研究」

オーガナイザー：福本 敏 (九大 院歯 小児口腔医学)

岩本 勉 (医科歯科大 院医歯 小児歯・障害者  
歯)

日時：9月17日(土) 15:50~17:20

会場：A会場(大塚講堂大ホール)

#### MS1-1 「臚と歯根膜におけるメカノ刺激」

浅原 弘嗣<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>医科歯科大 システム発生・再生医学, <sup>2</sup>スクリプス研 分子医学)

#### MS1-2 「毛包幹細胞の発生起源」

藤原 裕展 (理化学研 生命機能科学研究セ 細胞外環境研究)

#### MS1-3 「硬組織形成を司る幹細胞の in vivo 解析」

溝口 利英 (東歯大 口腔科学研究セ)

## メインシンポジウム2

### 「我々がこれから直面する，備えるべき感染症」

オーガナイザー：藤猪 英樹（慶應大 医 生物）

日時：9月18日（日）10：10～11：40

会場：A 会場（大塚講堂大ホール）

MS2-1 「口腔に見出されるウイルスの存在意義—細菌-ウイルス相互作用—」

神尾 宜昌, 今井 健一（日大 歯 感染症免疫）

MS2-2 「運び屋を標的にした蚊媒介性感染症の制御」

嘉糠 洋陸（慈恵医大 熱帯医学）

MS2-3 「ウイルスとの共生・レトロウイルスによる哺乳類の進化」

宮沢 孝幸（京大 医生物研 ウイルス共進化）

## メインシンポジウム3

### 「味覚と嗅覚の解明に向けて～末梢系および中枢系からのアプローチ～」

オーガナイザー：吉村 弘（徳大 院医歯薬 口腔分子生理）

日時：9月19日（月）8：40～10：10

会場：A 会場（大塚講堂大ホール）

MS3-1 「末梢味覚受容メカニズムの解明：味覚障害誘発薬物をツールとしたアプローチ」

重村 憲徳<sup>1,2</sup>（<sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能解析, <sup>2</sup>九大 五感応用デバイス研究開発セ）

MS3-2 「大脳皮質味覚野における情報処理機構」

小林 真之（日大 歯 薬理）

MS3-3 「ヒトの味覚・嗅覚研究の進展と今後の展望—非侵襲的計測法を用いた味覚・嗅覚の認識機構の可視化」

佐原 資謹（東北大 院歯 歯学イノベーションリエゾンセ 異分野融合）

## メインシンポジウム4

### 「モデル・コアと学生に研究マインドを持たせる方策」

オーガナイザー：馬場 麻人（徳大 院医歯薬 口腔顎顔面形態）

日時：9月19日（月）12：30～14：00

会場：A 会場（大塚講堂大ホール）

MS4-1 「歯学教育モデル・コア・カリキュラムの改訂ー良き歯科医師の養成をめざしてー」

河野 文昭（徳大 院医歯薬 総合診療）

MS4-2 「歯学モデル・コア・カリキュラム改訂における基礎系の変更点」

照沼 美穂（新潟大 院医歯 口腔生化）

MS4-3 「研究マインドの涵養ー徳島大学医学部医学科 Student Lab・医学研究実習の取組みー」

野間口雅子（徳大 院医歯薬 微生物病原）

MS4-4 「DDS-PhD コースで学んだこと」

渡邊 毅（徳大 院医歯薬 予防医学）

## ■ 歯科イノベーションロードマップシンポジウム

### Innovation roadmap symposium

### 「健康長寿社会を目指す口腔機能低下の予防と回復法の確立」

オーガナイザー：井上 誠（新潟大 院医歯 摂食嚥下リハビリ）

日時：9月19日（月）10：20～12：20

会場：A 会場（大塚講堂大ホール）

IRS-1 「老化により生じる全身性変化とその特徴ーフレイル・サルコペニアを中心にー」  
杉本 研（川崎医大 総合老年医学）

IRS-2 「骨格筋萎縮が誘発する認知機能障害ー筋から分泌される悪性マイオカインー」  
東田 千尋（富大 和漢医薬学総合研 神経機能）

IRS-3 「障害モデル動物を用いた摂食嚥下運動の観察」  
井上 誠（新潟大 院医歯 摂食嚥下リハ）

IRS-4 「転写調節因子 Phox2b を発現するニューロンの咀嚼様顎運動リズム形成と唾液分泌制御に対する役割」  
井上 富雄（昭大 歯 口腔生理）

## ■ 日本学術会議シンポジウム（市民公開） Science Council of Japan Symposium

### 「口腔と全身のネットワーク ～脈管系から生命現象を理解する～」

オーガナイザー：樋田 京子（北大 院歯 血管生物分子病理）  
渡部 徹郎（医科歯科大 院医歯 病態生化）

日時：9月17日（土）17：30～19：00

会場：A会場（大塚講堂大ホール）

SCJS-1 「口腔がん微小環境の制御による新規治療法の開発」  
渡部 徹郎（医科歯科大 院医歯 病態生化）

SCJS-2 「がんおよび感染症における血管病態の解明」  
間石 奈湖（北大 院歯 血管生物分子病理）

SCJS-3 「歯周病原細菌による生体バリア破綻と血管修復障害」  
多田 浩之（東北大 院歯 口腔分子制御）

SCJS-4 「血管ネットワークとその形づくり」  
久保田義顕（慶應大 医 解剖）

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

### 「コロナ禍で輝くライジングスター」

オーガナイザー：自見英治郎（九大 院歯 OBT 研究セ）

日時：9月18日（日）18：10～19：40

会場：A 会場（大塚講堂大ホール）

AD-1 「COVID-19の病態に関与する特異なT・B細胞サブセット」

金子 直樹（九大 院歯 顎顔面腫瘍制御）

AD-2 「新規骨髄骨格幹細胞発見への挑戦 —コロナ禍における研究ストラテジー—」

松下 祐樹（長大 院医歯薬 口腔腫瘍治療）

AD-3 「胎盤情報伝達の基盤解明と臨床応用をめざす国際共同研究」

楠山 譲二（東北大 学際科学フロンティア研）

AD-4 「コロナ禍アメリカでの食べ物の匂い嗜好性研究」

堀尾 奈央（Harvard Med Sch, Dept Cell Biol）

## ■ 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

### 「骨形成の場を整える吸収系細胞の検討」

オーガナイザー：笹野 泰之（東北大 院歯 顎口腔組織発生）

天野 修（明海大 歯 組織）

日時：9月18日（日）8：30～10：00

会場：A 会場（大塚講堂大ホール）

US1-1 「下顎の発生過程において石灰化組織吸収に寄与する細胞」

中村 恵（東北大 院歯 顎口腔組織発生）



US1-2 「破骨細胞の分化・機能に対する RANKL/Siglec-15 の作用について」

長谷川智香 (北大 院歯 硬組織発生)

US1-3 「表皮型脂肪酸結合タンパク (E-FABP/FABP5) を発現する非石灰化軟骨吸収細胞 septoclast」

坂東 康彦 (明海大 歯 組織)

## アップデートシンポジウム 2

### 「ブレインサイエンスが拓く，咬合咀嚼の生理学」

オーガナイザー：加藤 隆史 (阪大 院歯 口腔生理)

小野堅太郎 (九歯大 健康増進 生理)

日時：9月18日 (日) 8:30~10:00

会場：B 会場 (歯学部講堂)

US2-1 「光学計測法が明らかにする大脳皮質の口腔感覚情報処理部位」

藤田 智史 (日大 歯 基礎自然科学 (生物))

US2-2 「咀嚼筋感覚の高次脳への投射とその機能」

堤 友美 (阪大 院歯 口腔解剖 2)

US2-3 「顎運動制御におけるセロトニン神経系の役割」

壇辻 昌典 (昭大 歯 口腔生理)

US2-4 「三叉神経中脳路核の特異性から読み取る，咬合・咀嚼と脳機能の関係について」

後藤 哲哉 (鹿大 院医歯 機能形態)

## アップデートシンポジウム 3

### 「多階層的アプローチによる骨免疫学最前線」

オーガナイザー：塚崎 雅之 (東京大 院医 免疫)

小林 泰浩 (松歯大 総歯研)

日時：9月18日 (日) 16:30~18:00

会場：A 会場 (大塚講堂ホール)

US3-1 「オーバービュー：歯学と骨免疫学」

塚崎 雅之 (東京大 院医 免疫)

US3-2 「口腔老化幹細胞ニッチに着目した口腔老化メカニズム解明とその疾患治療法」

前川 知樹 (新潟大 院医歯 高口セ)

US3-3 「最新の三次元画像解析から読み解く破骨細胞の真の姿」

細沼 雅弘 (昭大 臨床薬理研 臨床免疫腫瘍)

US3-4 「骨髄を形成する骨格系細胞の細胞起源の解明」

松下 祐樹 (長大 院医歯薬 細胞生物)

US3-5 「口腔内細菌叢破綻の糖・脂質代謝への影響」

片桐さやか (医科歯科大 院医歯 歯周病)

US3-6 「歯の硬化に必要な血管新生と象牙質形成のカップリング」

松原 (高橋) 智子 (慶應大 医 解剖)

#### アップデートシンポジウム 4

### 「The Challenge Reports on Oral Microbiota by Domestic and Overseas Young Researchers」

オーガナイザー：鷲尾 純平 (東北大 院歯 口腔生化)

眞島いづみ (奥羽大 歯 口腔病態解析制御 口腔感染免疫)

永野 恵司 (北医療大 歯 口腔生物 微生物)

大島 朋子 (鶴大 歯 口腔微生物)

佐藤 拓一 (新潟大 院保健 臨床化学)

泉福 英信 (日大松戸歯 感染免疫)

日時：9月18日(日) 16:30~18:00

会場：B会場 (歯学部講堂)

US4-1 「How oral bacteria contribute to the onset of periodontitis? — Bacterial effects on the glucose metabolic activity of host cells —」

Haruki Otani (Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent)

US4-2 「Profiling of microbiota in the remaining green tea in plastic bottles after direct drinking」

Anna Wakui (Div Clin Chem, Niigata Univ Grad Sch Health Sci)

US4-3 「Investigation of oral-gut immune responses in a mouse model of periodontitis」

Ryoki Kobayashi (Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)

US4-4 「In vitro study on effective control of oral biofilm by Cetylpyridinium Chloride (CPC)」

Tomohiro Akiyama (R&D Dept, Sunstar Inc)

US4-5 「Impact of  $\beta$ -glucan metabolism on the development of co-biofilm with *T. forsythia* and *F. nucleatum*」

Kiyonobu Honma (Dept Oral Biol, Univ at Buffalo)

### アップデートシンポジウム5

### 「歯学基礎領域におけるがん研究フロンティア」

オーガナイザー：工藤 保誠 (徳大 院医歯薬 口腔生命科学分野)

樋田 京子 (北大 院歯 血管生物分子病理)

日時：9月19日(月) 14:10~15:40

会場：A会場(大塚講堂ホール)

US5-1 「腫瘍血管内皮細胞の特性とがん免疫」

樋田 京子 (北大 院歯 血管生物分子病理)

US5-2 「がん微小環境における細胞老化の新機能」

高橋 暁子 (がん研究会 がん研 細胞老化)

US5-3 「骨破壊性腫瘍の骨病変進展機序と骨系細胞を介した腫瘍制御—骨再生を併せ持つ新規抗腫瘍薬の開発—」

寺町 順平 (岡大 院医歯薬 口腔機能解剖)

US5-4 「口腔癌の浸潤・転移機構」

工藤 保誠 (徳大 院医歯薬 口腔生命科学)

## アップデートシンポジウム 6

### 「糖鎖認識分子による炎症制御と組織再生」

オーガナイザー：山本 朗仁（徳大 院医歯薬 組織再生制御）  
宇田川信之（松歯大 歯 生化）

日時：9月19日（月）14：10～15：40

会場：B会場（歯学部講堂）

US6-1 「シアル酸認識レクチンと認識糖鎖の相互作用による細胞機能制御機構」

古川 鋼一（中部大 生命健康 生命医 糖鎖生物）

US6-2 「シアル酸認識レクチンと免疫応答」

鏑田 武志（日大 歯 病理）

US6-3 「Siglec-15 は破骨細胞分化・骨吸収機能および骨芽細胞分化に重要な役割を果たす」

宇田川信之（松歯大 歯 生化）

US6-4 「シアル酸認識レクチンを用いた関節再生薬の開発」

山本 朗仁（徳大 院医歯薬 組織再生制御）

## ■ 一般演題 (口演)

9月18日(日) 8:30~9:20 D会場

歯牙・歯髄-1・・・・・・・・・・・・・・・・座長：依田 浩子(新潟大 院医歯 硬組織形態)

2-O1-D1	酸性モノフルオロリン酸ナトリウム歯面塗布法による歯質耐酸性の向上 ○佐藤 涼一, 岩崎 美友, 杉原 直樹(東歯大 衛生)
2-O1-D2	バイオアパタイト歯面塗布法による象牙質耐酸性の検討 ○岩崎 美友, 佐藤 涼一, 杉原 直樹(東歯大 衛生)
2-O1-D3	エナメル質形成不全症様を呈す <i>Amelx-tdTomato</i> マウス及び象牙質形成不全症様を呈す <i>Dspp-GFP</i> マウスの象牙質の性状解析 ○磯野 加奈, 松山 加乃, 山崎 英俊(三重大 院医 幹細胞)
2-O1-D4	Intraflagellar transport protein 88 による象牙芽前駆細胞増殖制御機構 ○河田かずみ <sup>1</sup> , 青山絵理子 <sup>2</sup> , 久保田 聡 <sup>1</sup> (岡大 院医歯薬 口腔生化, <sup>2</sup> 岡大 歯先端研セ)
2-O1-D5	ヒト由来 iPS 細胞を用いた象牙芽細胞への分化誘導 ○野添 彬, 宮川 和晃, 中野 知帆, 田中 晋(阪大 院歯 口外1)

9月18日(日) 9:20~10:00 D会場

歯牙・歯髄-2・・・・・・・・・・・・・・・・座長：三好 圭子(徳大 院医歯薬 口腔生命科学)

2-O2-D1	エナメル上皮細胞分化におけるオートファジーの役割 ○依田 浩子 <sup>1</sup> , 大津 圭史 <sup>2</sup> , 原田 英光 <sup>2</sup> , 大島 勇人 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 新潟大 院医歯 硬組織形態, <sup>2</sup> 岩医大 解剖 発生再生)
2-O2-D2	The interaction between osteopontin and stem/progenitor cells determines the pulpal healing following tooth replantation in mice ○Quispe-Salcedo Angela <sup>1</sup> , Suzuki Kiyoko <sup>1</sup> , 中富 満城 <sup>2</sup> , 依田 浩子 <sup>1</sup> , 大島 勇人 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 新潟大 院医歯 顎顔面再建 硬組織形態, <sup>2</sup> 産業医大 産業保健)
2-O2-D3	赤外イメージングおよび赤外二色性イメージングによるテトラサイクリン変色歯の評価 ○中村 郁哉, 木村-須田 廣美(公立千歳科技大 院理工)
2-O2-D4	人工知能による歯種鑑別：下顎小臼歯と下顎大臼歯 ○五十嵐由里子 <sup>1</sup> , 近藤信太郎 <sup>1</sup> , 栗飯原 萌 <sup>2</sup> , 金子 美泉 <sup>2</sup> , 内木場文男 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 日大松戸歯 解剖, <sup>2</sup> 日大 理工)

9月18日(日) 8:30~9:10 E会場

炎症・免疫-1・・・・・・・・・・・・・・・・座長：田中 芳彦(福歯大 歯 感染生物)

2-O3-E1	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 <sup>1</sup> , 吹田 憲治 <sup>2</sup> , 松尾 一郎 <sup>1</sup> , 伊藤 愛子 <sup>3</sup> , 清本 賢一 <sup>1</sup> , 角田 通則 <sup>1</sup> , 成山明具美 <sup>4</sup> , 大貫 芳樹 <sup>2</sup> , 五味 一博 <sup>1</sup> , 奥村 敏 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 鶴大 歯 歯周病, <sup>2</sup> 鶴大 歯 生理, <sup>3</sup> 鶴大 歯 矯正, <sup>4</sup> 鶴大 歯 小児歯)
2-O3-E2	YAP/TAZ メカノシグナルは間葉系幹細胞の細胞保護因子産生能を制御する ○吉井 寛毅 <sup>1</sup> , 加治屋幹人 <sup>1,2</sup> , 吉野 舞 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 広大 院医 歯周, <sup>2</sup> 広大 病院歯 口腔先端治療開発)
2-O3-E3	18kDa Translocator protein (TSPO) の T 細胞依存的免疫応答における役割解析 ○千代 侑香 <sup>1</sup> , 一戸 達也 <sup>1</sup> , 東 俊文 <sup>2</sup> , 大野 建州 <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> 東歯大 麻酔, <sup>2</sup> 東歯大 生化, <sup>3</sup> 東歯大 口腔科学セ)
2-O3-E4	卵殻由来水酸アパタイトの粘膜免疫賦活作用 ○瀧澤 智美 <sup>1</sup> , 望月 千尋 <sup>2</sup> , 齋藤 真規 <sup>1</sup> , 桑原 紀子 <sup>1</sup> , 小林 良喜 <sup>1</sup> , 泉福 英信 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 日大松戸歯 感染免疫, <sup>2</sup> 株式会社 バイオアパタイト)

9月18日(日) 9:10~9:50 E会場

炎症・免疫-2 . . . . . 座長：大塚 邦紘 (徳大 院医歯薬 口腔分子病態)

2-O4-E1	Neutrophil extracellular traps による RANKL 誘導性破骨細胞の分化制御 ○沼崎 研人 <sup>1,2</sup> , 多田 浩之 <sup>1</sup> , 松下 健二 <sup>3</sup> , 溝口 到 <sup>2</sup> , 菅原 俊二 <sup>1</sup> (1東北大 院歯 口腔分子制御, 2東北大 院歯 顎口腔矯正, 3長寿セ 口腔疾患)
2-O4-E2	重度歯周炎患者歯周プラーク構成異常細菌の同定と培養頻出菌投与によるマウス腸炎への影響 ○池田 恵莉 <sup>1</sup> , 永井 重徳 <sup>1</sup> , 石原 和幸 <sup>2</sup> , 池田 裕一 <sup>3</sup> , 東 みゆき <sup>1</sup> (1医科歯科大 院医歯 分子免疫, 2東歯大 微生物, 3医科歯科大 院医歯 歯周病)
2-O4-E3	新規 B7 ファミリー免疫チェックポイントリガンド VSIG4 は, カウンターレセプターを介して早期の CD8 + T 細胞活性化を抑制する ○Widyagarini Amrita, 張 晨陽, 東 みゆき (医科歯科大 院医歯 分子免疫)
2-O4-E4	線維化を制御する PU.1 発現に対する核移行した CCN2 の作用 ○西田 崇 <sup>1,2</sup> , 滝川 正春 <sup>2</sup> , 久保田 聡 <sup>1</sup> (1岡大 院医歯薬 口腔生化, 2岡大 院医歯薬 歯先端研セ)

9月18日(日) 8:30~9:00 F会場

腫瘍-1 . . . . . 座長：常松 貴明 (徳大 院医歯薬 口腔分子病態)

2-O5-F1	低分子量 G タンパク質 ARL4C の発現はエナメル上皮腫における腫瘍細胞増殖と破骨細胞形成を促進する ○藤井 慎介 <sup>1,2</sup> , 自見英治郎 <sup>3,4</sup> , 清島 保 <sup>1</sup> (1九大 院歯 口腔病理, 2九大 院歯 DDR 研究セ, 3九大 院歯 OBT 研究セ, 4九大 院歯 口腔細胞工学)
2-O5-F2	$\alpha$ TAT1 によるチューブリンのアセチル化はエナメル上皮腫細胞の遊走浸潤に関与する ○吉本 尚平 <sup>1</sup> , 岡村 和彦 <sup>1</sup> (1福歯大 病理, 2福歯大 口腔医学研究セ)
2-O5-F3	口腔扁平上皮癌において p63 シグナルは YAP シグナルと協調的に細胞内シグナルおよび DNA メチル化を制御する ○長谷川佳那 <sup>1</sup> , 藤井 慎介 <sup>1,2</sup> , 清島 保 <sup>1</sup> (1九大 院歯 口腔病理, 2九大 院歯 DDR 研究セ)
2-O5-F4	(取り下げ)

9月18日(日) 9:10~9:40 F会場

腫瘍-2 . . . . . 座長：藤井 慎介 (九大 院歯 口腔病理)

2-O6-F1	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 <sup>1</sup> , 坂詰 博仁 <sup>2</sup> , 板垣 荘侑 <sup>1</sup> , 森田 貴雄 <sup>1</sup> (1日歯大新潟 生化, 2日歯大新潟 院生命歯 顎口腔全身管理)
2-O6-F2	頭頸部扁平上皮がんの予後を予測する部分上皮間葉転換リスクモデルの構築 ○毛利 安宏, 木曾田 暁, 工藤 保誠 (徳大 口腔生命科学)
2-O6-F3	CCN6 は Smad1/5/8 のリン酸化を阻害して BMP2 促進性の口腔がん細胞の上皮間葉転換を抑制する ○芳地 浩彰 <sup>1</sup> , 西田 崇 <sup>1,2</sup> , 滝川 正春 <sup>2</sup> , 久保田 聡 <sup>1</sup> (1岡大 院医歯薬 口腔生化, 2岡大 院医歯薬 歯先端研セ)

9月19日(月) 10:00~10:50 D会場

微生物-1 . . . . . 座長：松尾 美樹 (広大 院医 細菌)

3-O7-D1	Autoinducer Analog-1 (AIA-1) decreases antibiotic tolerance of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> through pruR and PA0066-65-64 expression ○パレヴィ ムハンマドレザ <sup>1</sup> , 村上 圭史 <sup>1,2</sup> , 村上 明一 <sup>1</sup> , 藤猪 英樹 <sup>1,3</sup> (1徳大 院医歯薬 口腔微生物, 2川崎医療福祉大, 3慶應大)
3-O7-D2	ビルベリー由来抗歯周病原細菌活性物質の精製と同定 ○佐藤祐太郎 <sup>1,2</sup> , 石原 和幸 <sup>2</sup> (1岡大 院医歯薬 天然医薬品開発, 2東歯大 微生物)
3-O7-D3	<i>Porphyromonas gingivalis</i> におけるタンパク質分泌機構の解析 ○庄子 幹郎, 雪竹 英治, 内藤真理子 (長大 院医歯薬 口腔病原微生物)



<b>3-07-D4</b>	マウスにおける <i>Porphyromonas gingivalis</i> 由来外膜小胞の血行動態について ○内山 大樹 <sup>1,3</sup> , 宮崎 英隆 <sup>2</sup> , 山口 雄大 <sup>3</sup> , 中尾 龍馬 <sup>3</sup> (1医科歯科大 院医歯 外科, 2愛医大 眼形外, 3国立感染症研 細菌第一部)
<b>3-07-D5</b>	菌体外で検出される <i>Streptococcus mutans</i> コラーゲン結合タンパク (Cnm) 複合体 ○村田 貴俊 (鶴大 歯 口腔衛生)

9月19日(月) 10:50~11:40 D会場

微生物-2 . . . . . 座長: 住友 倫子 (阪大 院歯 口腔細菌)

<b>3-08-D1</b>	<i>Streptococcus pneumoniae</i> による肺炎において加齢が重症化に果たす機構の解明 ○山口 雅也, 小林 桃子, 大野 誠之, 川端 重忠 (阪大 院歯 口腔細菌)
<b>3-08-D2</b>	口腔 <i>Veillonella</i> における新栄養源-フルクトース代謝能の評価 ○眞島いづみ <sup>1</sup> , 中澤 太 <sup>2</sup> , 清浦 有祐 <sup>1</sup> (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)
<b>3-08-D3</b>	口腔から分離されたセファロスポリン耐性グラム陰性菌に対する消毒剤感受性 ○春田 梓 <sup>1</sup> , 松尾 美樹 <sup>2,3</sup> , 吉川 峰加 <sup>1</sup> , 竹内 真帆 <sup>1</sup> , Le Nguyen Tra Mi <sup>1</sup> , 津賀 一弘 <sup>1</sup> , 小松澤 均 <sup>2,3</sup> (1広大院 医 補綴, 2広大院 医 細菌, 3広大院 内感染症プロジェクト研究セ)
<b>3-08-D4</b>	ブラジル連邦共和国バイア州産プロポリスの口腔細菌への影響 ○瀧川 博樹, 真下 千穂, 南部 隆之, 円山 由郷, 沖永 敏則 (大歯大 院歯 細菌)
<b>3-08-D5</b>	歯周病菌の由来 LPS に起因する心疾患発症過程における心臓型アデニル酸シクラーゼの役割 ○角田 通則 <sup>1,2</sup> , 大貫 芳樹 <sup>2</sup> , 吹田 憲治 <sup>2</sup> , 松尾 一郎 <sup>1,2</sup> , 早川 佳男 <sup>2,3</sup> , 清本 賢一 <sup>1,2</sup> , 森井 彰伸 <sup>1,2</sup> , 成山明具美 <sup>2,4</sup> , 五味 一博 <sup>1</sup> , 奥村 敏 <sup>2</sup> (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)

9月19日(月) 10:00~11:00 E会場

唾液腺 . . . . . 座長: 豊田 博紀 (阪大 院歯 口腔生理)

<b>3-09-E1</b>	唾液腺および口腔粘膜上皮細胞における ACE2 発現: AMPK の役割 ○四釜 洋介, 古川 匡恵, 松下 健二 (長寿セ 口腔疾患研究)
<b>3-09-E2</b>	ハムスターモデルにおける口腔あるいは鼻腔を介した SARS-CoV-2 感染波及の比較 ○五條 菜央 <sup>1</sup> , 宇佐美 悠 <sup>2</sup> , 木村 友昌 <sup>1,3</sup> , 酒井 学 <sup>4</sup> , 阪井 丘芳 <sup>1</sup> (1阪大 院歯 顎治, 2阪大 院歯 口腔病理, 3阪大 院歯 口外 2, 4阪大 歯病 検査部)
<b>3-09-E3</b>	ピロカルピンとベタネコール刺激による唾液分泌変化の違い ○坂詰 博仁 <sup>1,2</sup> , 山口 晴香 <sup>2</sup> , 佐藤 律子 <sup>3</sup> , 板垣 壮侑 <sup>2</sup> , 吉田 織恵 <sup>4</sup> , 根津 顕弘 <sup>5</sup> , 谷村 明彦 <sup>5</sup> , 田中 彰 <sup>1</sup> , 森田 貴雄 <sup>2</sup> (1日歯大新潟 口外, 2日歯大新潟 生化, 3日歯大新潟短大 歯科衛生, 4日歯大新潟 小児, 5北医療大 歯 薬理)
<b>3-09-E4</b>	唾液腺の発育において HIF-1 $\alpha$ が mTOR シグナル経路に与える影響 ○木村 友昌 <sup>1,2</sup> , 酒井 学 <sup>3</sup> , 五條 菜央 <sup>2</sup> , 阪井 丘芳 <sup>2</sup> (1阪大 院歯 口外 2, 2阪大 院歯 顎治, 3阪大 歯病 検査)
<b>3-09-E5</b>	歯髄幹細胞培養上清の抗酸化効果による放射線性口腔乾燥症の治療メカニズム ○沖 若奈, 加納 史也, 西原 嵩晃, 橋本 登, 山本 朗仁 (徳大 院医歯薬 組織再生制御)
<b>3-09-E6</b>	脱細胞化唾液腺組織を応用した人工唾液腺の作出 ○大沼慎太郎, 美島 健二, 安原 理佳, 田中 準一, 行森 茜 (昭大 院歯 口腔病理)

9月19日(月) 10:00~10:40 F会場

骨・軟骨-1 . . . . . 座長: 長谷川智香 (北大 院歯 硬組織発生生物)

<b>3-O10-F1</b>	骨芽細胞分化における細胞内および分泌型オステオポンチンアイソフォームの異なる役割 ○マルディヤントロ フレディ <sup>1,2</sup> , 成 昌典 <sup>1,2</sup> , 千葉 紀香 <sup>2</sup> , 大西 智和 <sup>2</sup> , 松口 徹也 <sup>2</sup> (1鹿大 院医歯 顎顔面外科, 2鹿大 院医歯 口腔生化)
<b>3-O10-F2</b>	LC3 の阻害は破骨細胞の成熟を抑制し, 歯周病モデルの骨破壊を抑制する ○日浦 史隆 <sup>1</sup> , 川端 由子 <sup>2</sup> , 溝上 顕子 <sup>3</sup> , 自見英治郎 <sup>1,3</sup> (1九大 院歯 口腔細胞工学, 2九大 院歯 口腔機能分子, 3九大 院歯 OBT 研セ)

<b>3-O10-F3</b>	充実環境による閉経後骨粗鬆症・体重増加に対する抑制効果 ○鞠 超然 <sup>1</sup> , 川端 由子 <sup>1</sup> , 李 傲男 <sup>1</sup> , 黄 菲 <sup>1</sup> , 片桐 岳信 <sup>2</sup> , 自見英治郎 <sup>1,3</sup> ( <sup>1</sup> 九大 院歯 口腔細胞工学, <sup>2</sup> 埼玉医大 医 ゲノム基礎, <sup>3</sup> 九大 院歯 OBT 研究セ)
<b>3-O10-F4</b>	Runx2 の新規標的分子の同定と骨形成における機能的役割 ○高畑 佳史, 村上 智彦, 波多 賢二, 西村 理行 (阪大 院歯 生化)

9月19日(月) 10:40~11:20 F会場

**骨・軟骨-2** . . . . . 座長：平賀 徹 (松歯大 歯 解剖)

<b>3-O11-F1</b>	S-アデノシルメチオニンはポリアミン産生だけでなく増殖因子の遺伝子発現を促進することによって軟骨分化を促進する。 ○ホアンディン ロック <sup>1,2</sup> , 青山絵理子 <sup>1</sup> , 久保田 聡 <sup>3</sup> , 窪木 拓男 <sup>2</sup> , 滝川 正春 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 岡大 院医歯薬 歯先端研セ, <sup>2</sup> 岡大 院医歯薬 インプラント, <sup>3</sup> 岡大 院医歯薬 口腔生化)
<b>3-O11-F2</b>	NF- $\kappa$ B シグナルの調節メカニズムは閉経後骨粗鬆症と体重増加に関する ○黄 菲 <sup>1</sup> , 高 靖 <sup>1</sup> , 李 傲男 <sup>1</sup> , 溝上 顕子 <sup>2</sup> , 自見英治郎 <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> 九大 院歯 口腔細胞工学, <sup>2</sup> 九大 院歯 OBT セ)
<b>3-O11-F3</b>	乳歯歯髄幹細胞培養上清は M2 マクロファージ誘導を介してマウス変形性顎関節症を改善する ○Xia Linze <sup>1,2</sup> , 加納 史也 <sup>2</sup> , 橋本 登 <sup>2</sup> , 田中 栄二 <sup>1</sup> , 山本 朗仁 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 徳大 院医歯薬 顎顔面矯正, <sup>2</sup> 徳大 院医歯薬 組織再生制御)
<b>3-O11-F4</b>	軟骨細胞における CCN2 由来環状 RNA の発現 ○加藤 杜真 <sup>1,2</sup> , 河田かずみ <sup>1</sup> , 西田 崇 <sup>1</sup> , 久保田 聡 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 岡大 院医歯薬 口腔生化, <sup>2</sup> 岡大 院医歯薬 口腔再建外科)

9月19日(月) 14:10~14:40 D会場

**歯周組織** . . . . . 座長：中村 恵 (東北大 院歯 顎口腔組織発生)

<b>3-O12-D1</b>	歯周炎による SARS-CoV-2 のプライミング因子である TMPRSS2 の歯肉発現増強 ○大西 智和 <sup>1</sup> , 中村 利明 <sup>2</sup> , 嶋 香織 <sup>3</sup> , 野口 和行 <sup>2</sup> , 千葉 紀香 <sup>1</sup> , 松口 徹也 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 鹿大 院医歯 口腔生化, <sup>2</sup> 鹿大 院医歯 歯周病, <sup>3</sup> 鹿大 院医歯 口腔病理)
<b>3-O12-D2</b>	転写因子 NF- $\kappa$ B の新たな活性化制御機構とその機能解析 ○青木 司 <sup>1,2</sup> , 松田 美穂 <sup>2</sup> , 自見英治郎 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 九大 院歯 歯周, <sup>2</sup> 九大 院歯 口腔細胞工学)
<b>3-O12-D3</b>	血小板由来成長因子(PDGF-BB)は再植歯においてアンキロシスを抑制し歯根膜の支持機能修復を促進する ○小松浩一郎, 出野 尚, 中島 和久, 二藤 彰 (鶴大 歯 薬理)

9月19日(月) 14:40~15:30 D会場

**筋組織** . . . . . 座長：岡村 裕彦 (岡大 院医歯薬 口腔形態)

<b>3-O13-D1</b>	レニン-アンジオテンシン系が歯周病による心機能低下に及ぼす影響 ○清本 賢一 <sup>1</sup> , 吹田 憲治 <sup>2</sup> , 大貫 芳樹 <sup>2</sup> , 松尾 一郎 <sup>1</sup> , 角田 通則 <sup>1</sup> , 森井 彰伸 <sup>1</sup> , 伊藤 愛子 <sup>3</sup> , 石川美紗緒 <sup>4</sup> , 五味 一博 <sup>1</sup> , 奥村 敏 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 鶴大 歯 歯周病, <sup>2</sup> 鶴大 歯 生理, <sup>3</sup> 鶴大 歯 矯正, <sup>4</sup> 鶴大 歯 解剖1)
<b>3-O13-D2</b>	<i>Mitf</i> 遺伝子変異による咬筋リモデリングの誘導 ○成山明具美 <sup>1</sup> , 大貫 芳樹 <sup>2</sup> , 吹田 憲治 <sup>2</sup> , 石川美佐緒 <sup>3</sup> , 伊藤 愛子 <sup>4</sup> , 松尾 一郎 <sup>5</sup> , 早川 佳男 <sup>6</sup> , 朝田 芳信 <sup>1</sup> , 奥村 敏 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 鶴大 歯 小児歯, <sup>2</sup> 鶴大 歯 生理, <sup>3</sup> 鶴大 歯 解剖I, <sup>4</sup> 鶴大 歯 矯正, <sup>5</sup> 鶴大 歯 歯周病, <sup>6</sup> 鶴大 歯 麻酔)
<b>3-O13-D3</b>	レニンアンジオテンシン系の抑制は咬合異常に起因する心機能障害に対する心臓保護効果を示す ○伊藤 愛子 <sup>1</sup> , 大貫 芳樹 <sup>2</sup> , 吹田 憲治 <sup>2</sup> , 石川美佐緒 <sup>3</sup> , 松尾 一郎 <sup>4</sup> , 早川 佳男 <sup>5</sup> , 成山明具美 <sup>6</sup> , 友成 博 <sup>1</sup> , 奥村 敏 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 鶴大 歯 矯正, <sup>2</sup> 鶴大 歯 生理, <sup>3</sup> 鶴大 歯 解剖1, <sup>4</sup> 鶴大 歯 歯周病, <sup>5</sup> 鶴大 歯 麻酔, <sup>6</sup> 鶴大 歯 小児歯)
<b>3-O13-D4</b>	心臓型アデニル酸シクラーゼ遮断薬 (ビダラビン) によるマウス咬合異常モデルに見られる心筋障害に対する保護効果の検討 ○早川 佳男 <sup>1</sup> , 大貫 芳樹 <sup>2</sup> , 吹田 憲治 <sup>2</sup> , 石川美紗緒 <sup>3</sup> , 伊藤 愛子 <sup>3</sup> , 松尾 一郎 <sup>4</sup> , 清本 賢一 <sup>4</sup> , 角田 通則 <sup>4</sup> , 河原 博 <sup>1</sup> , 奥村 敏 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 鶴大 歯 麻酔, <sup>2</sup> 鶴大 歯 生理, <sup>3</sup> 鶴大 歯 解剖1, <sup>4</sup> 鶴大 歯 矯正, <sup>5</sup> 鶴大 歯 歯周病)



3-O13-D5

*Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS の慢性投与下における心疾患発症には TLR4-NOX4 シグナルが重要である

○松尾 一郎<sup>1</sup>, 吹田 憲治<sup>2</sup>, 早川 佳男<sup>6</sup>, 伊藤 愛子<sup>3</sup>, 石川美紗緒<sup>4</sup>, 成山明具美<sup>5</sup>, 大貫 芳樹<sup>2</sup>, 五味 一博<sup>1</sup>, 奥村 敏<sup>2</sup> (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, 5鶴大 歯 小児歯, 6鶴大 歯 麻酔)

9月19日(月) 14:10~14:50 E会場

神経・脈管-1 . . . . . 座長：林 良憲 (日大 歯 生理)

3-O14-E1

テストステロンシグナルはミクログリアにおけるオートファジーを増強する

○杜 海妍<sup>1</sup>, 溝上 顕子<sup>2</sup>, 兼松 隆<sup>1</sup>, 佐野 朋美<sup>1</sup>, 山脇 洋輔<sup>3</sup> (1九大 院歯 口腔機能分子, 2九大 院歯 口腔脳機能病態, 3第一薬科大 先端薬理)

3-O14-E2

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<sup>1</sup>, 佐藤 寿哉<sup>2</sup>, イスラム ナディム<sup>2</sup>, 齊藤 正人<sup>1</sup>, 石井 久淑<sup>2</sup> (1北医療大 歯 小児歯, 2北医療大 生理)

3-O14-E3

疼痛行動に対する三叉神経脊髄路核尾側亜核へ下行性投射する島皮質ニューロンの役割

○中谷 有香, 小林 真之 (日大 歯 薬理)

3-O14-E4

嗜好学習試験によるラット口腔内粒子性認知の解析

○中富 千尋<sup>1</sup>, 堀江 成和<sup>1,2</sup>, 徐 嘉鍵<sup>1</sup>, 乾 賢<sup>3</sup>, 小野堅太郎<sup>1</sup> (1九歯大 生理, 2九歯大 顎口腔機能矯正, 3北大 院歯 口腔生理)

9月19日(月) 14:50~15:30 E会場

神経・脈管-2 . . . . . 座長：中村 史朗 (昭大 歯 口腔生理)

3-O15-E1

bFGF は静止期の血管平滑筋細胞を特異的に刺激し増殖と脱分化を誘導する

○田村-辻 潔美, 田村 正人 (北大 院歯 口腔分子生)

3-O15-E2

GBA 遺伝子構造の再定義と細胞特異的発現制御機構の解析

○三好 圭子<sup>1</sup>, 堀口 大吾<sup>1</sup>, 谷村 綾子<sup>2</sup> (1徳大 院医歯薬 口腔生命, 2熊大 環境共生 食健康環境)

3-O15-E3

オプトジェネティクス法を用いた島皮質 PV 細胞の活性化による疼痛制御効果

○小林 理美<sup>1,2</sup>, 藤田 智史<sup>2</sup>, 小林 真之<sup>1</sup> (1日大 歯 薬理, 2日大 歯 生物)

3-O15-E4

短期間口テノン鼻腔内投与マウスにおける口腔内冷感受性の低下

○佐藤 元, 安達 一典 (明海大 歯 薬理)

## ■ 一般演題 (ポスター)

9月17日(土) 13:00~19:00 ポスター会場

### 解剖学 (モリタ賞応募) . . . . .

<b>1-PM1</b>	相同モデルによる上顎第一小臼歯の3次元形態の性的二型 ○宮崎 樹梨, 近藤信太郎, 根岸 慎一 (日大松戸歯 矯正)
<b>1-PM2</b>	イモリ下顎の組織構造の解析 ○坪崎 健斗, 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)

### 生化学 (モリタ賞応募) . . . . .

<b>1-PM3</b>	骨芽細胞におけるオステオカルシンと BMP2 の開口分泌動態: 生物発光イメージング法による可視化 ○杉本 穂波 <sup>1,2</sup> , 福田 信治 <sup>2</sup> , 佐藤 琢麻 <sup>1</sup> , 宮澤 健 <sup>1</sup> , 鈴木 崇弘 <sup>2</sup> , 後藤 滋巳 <sup>1</sup> (愛院大 歯 矯正, <sup>2</sup> 愛院大 歯 生化)
<b>1-PM4</b>	破骨細胞による骨吸収に及ぼすミダゾラムの影響 ○針ヶ谷紘子 <sup>1</sup> , 唐木田丈夫 <sup>2</sup> , 大熊理紗子 <sup>2</sup> , 山本 竜司 <sup>2</sup> , 河原 博 <sup>1</sup> , 山越 康雄 <sup>2</sup> (鶴大 歯 麻酔, <sup>2</sup> 鶴大 歯 生化)
<b>1-PM5</b>	ヒト腸骨から初代骨細胞を単離する試み ○西澤 千晶 <sup>1</sup> , 宮川 和晃 <sup>1</sup> , 高垣 裕子 <sup>2</sup> , 田中 晋 <sup>1</sup> (阪大 院歯 口外 <sup>1</sup> , <sup>2</sup> 神歯大 院歯)
<b>1-PM6</b>	酸素分圧に依存した軟骨細胞死におけるモノカルボン酸トランスポーター-1 の役割 ○田中 元博 <sup>1,2</sup> , 宮本 洋一 <sup>1</sup> , 笹 清人 <sup>1</sup> , 山田 篤 <sup>1</sup> , 代田 達夫 <sup>2</sup> , 上條竜太郎 <sup>1</sup> (昭大 歯 口腔生化, <sup>2</sup> 昭大 歯 顎顔面口外)
<b>1-PM7</b>	上皮ケラチノサイトにおけるグルコースが及ぼす TGF- $\beta$ 誘導性上皮間葉転換への影響 ○武石 幸容, 長岡 良礼, 八田 光世 (福歯大 細胞分子生物 分子機能)
<b>1-PM8</b>	小胞体ストレスはリポ多糖に対する炎症応答を増強する ○中南 友里, 村上 智彦, 高畑 佳史, 波多 賢二, 西村 理行 (阪大 院歯 生化)
<b>1-PM9</b>	Neutrophil extracellular traps による RANKL 誘導性破骨細胞の分化制御 ○沼崎 研人 <sup>1,2</sup> , 多田 浩之 <sup>1</sup> , 松下 健二 <sup>3</sup> , 溝口 到 <sup>2</sup> , 菅原 俊二 <sup>1</sup> (東北大 院歯 口腔分子制御, <sup>2</sup> 東北大 院歯 顎口腔矯正, <sup>3</sup> 長寿セ 口腔疾患)
<b>1-PM10</b>	HUCPVC の石灰化に及ぼす塩基性線維芽細胞増殖因子の影響についての検討 ○矢部 正浩 <sup>1</sup> , 唐木田丈夫 <sup>2</sup> , 山本 竜司 <sup>2</sup> , 大熊理紗子 <sup>2</sup> , 野々山 駿 <sup>1</sup> , 長野 孝俊 <sup>1</sup> , 山越 康雄 <sup>2</sup> , 五味 一博 <sup>1</sup> (鶴大 歯 歯周, <sup>2</sup> 鶴大 歯 生化)
<b>1-PM11</b>	骨吸収による TGF- $\beta$ が破骨細胞へ与える影響 ○大熊理紗子, 唐木田丈夫, 山越 康雄 (鶴大 歯 生化)
<b>1-PM12</b>	脱ユビキチン化酵素 OTUB1 の頭頸部扁平上皮癌の進展における役割 ○Jin Shengjian <sup>1</sup> , 常松 貴明 <sup>2</sup> , 堀口 大吾 <sup>1</sup> , 石丸 直澄 <sup>2</sup> , 工藤 保誠 <sup>1</sup> (徳大 院医歯薬 口腔生命科学, <sup>2</sup> 徳大 院医歯薬 口腔分子病態)
<b>1-PM13</b>	マクロファージは LepR 陽性細胞を活性化し骨再生を促進する ○何 治鋒 <sup>1</sup> , 溝口 利英 <sup>2</sup> , 平賀 徹 <sup>3</sup> , 中道 裕子 <sup>1</sup> , 山下 照仁 <sup>1</sup> , 小出 雅則 <sup>1</sup> , 宇田川信之 <sup>1</sup> , 小林 泰浩 <sup>1</sup> (松歯大 総合歯科医学研 生化, <sup>2</sup> 東歯大 口腔科学研究セ, <sup>3</sup> 松歯大 歯 口腔解剖)
<b>1-PM14</b>	LC3 の阻害は破骨細胞の成熟を抑制し, 歯周病モデルの骨破壊を抑制する ○日浦 史隆 <sup>1</sup> , 川端 由子 <sup>2</sup> , 溝上 顕子 <sup>3</sup> , 自見英治郎 <sup>1,3</sup> (九大 院歯 口腔細胞工学, <sup>2</sup> 九大 院歯 口腔機能分子, <sup>3</sup> 九大 院歯 OBT 研セ)
<b>1-PM15</b>	口腔内細菌の代謝産物である短鎖脂肪酸が RANKL 誘導破骨細胞形成に及ぼす影響 ○朝山 雄之, 津田 啓方 (日大 歯 口外・口腔外科)
<b>1-PM16</b>	ヒト歯髄幹細胞における Er:YAG レーザーおよび半導体レーザー照射による影響 ○吉田 凌 <sup>1</sup> , 山川駿次郎 <sup>1</sup> , 小林 一行 <sup>2</sup> , 山本 竜司 <sup>3</sup> , 大熊理紗子 <sup>3</sup> , 唐木田丈夫 <sup>3</sup> , 山崎 泰志 <sup>1</sup> , 山越 康雄 <sup>3</sup> , 細矢 哲康 <sup>1</sup> (鶴大 歯 歯内, <sup>2</sup> 鶴大 短 歯衛, <sup>3</sup> 鶴大 歯 生化)
<b>1-PM17</b>	近赤外線光線療法薬の薬剤関連性顎骨壊死への応用と分子機構の解明 ○下平 剛, 大杉 勇人, 片桐さやか, 芝 多佳彦, 駒津 匡二, 劉 安豪, 林 培雅, 豊嶋 啓汰, 青木 章 (医科歯科大 院医歯 歯周病)
<b>1-PM18</b>	骨抽出物中に含まれる石灰化誘導因子の同定 ○齊藤 悠 <sup>1,2</sup> , 山本 竜司 <sup>2</sup> , 大熊理紗子 <sup>2</sup> , 唐木田丈夫 <sup>2</sup> , 白井 麻衣 <sup>1</sup> , 山越 康雄 <sup>2</sup> (鶴大 歯 補綴 <sup>1</sup> , <sup>2</sup> 鶴大 歯 生化)

1-PM19	<p>ピロカルピンとベタネコール刺激による唾液分泌変化の違い</p> <p>○坂詰 博仁<sup>1,2</sup>, 山口 晴香<sup>2</sup>, 佐藤 律子<sup>3</sup>, 板垣 壮侑<sup>2</sup>, 吉田 織恵<sup>4</sup>, 根津 顕弘<sup>5</sup>, 谷村 明彦<sup>5</sup>, 田中 彰<sup>1</sup>, 森田 貴雄<sup>2</sup> (日歯大新潟 口外, <sup>2</sup>日歯大新潟 生化, <sup>3</sup>日歯大新潟短大 歯科衛生, <sup>4</sup>日歯大新潟 小児, <sup>5</sup>北医療大 歯薬理)</p>
1-PM20	<p>唾液腺における Id4 の役割と病態への関与</p> <p>○木村 宗惟<sup>1,2</sup>, 林 慶和<sup>1,3</sup>, 佐伯 彩華<sup>1</sup>, 安河内 篤<sup>2</sup>, 中村 誠司<sup>2</sup>, 自見英治郎<sup>1</sup>, 安河内 (川久保) 友世<sup>1</sup> (九大 院歯 OBT 研究セ, <sup>2</sup>九大 院歯 顎顔面腫瘍制御, <sup>3</sup>福歯大 生体構造 機能構造)</p>
1-PM21	<p>転写因子 NF-<math>\kappa</math>B の新たな活性化制御機構とその機能解析</p> <p>○青木 司<sup>1,2</sup>, 松田 美穂<sup>2</sup>, 自見英治郎<sup>2</sup> (九大 院歯 歯周, <sup>2</sup>九大 院歯 口腔細胞工学)</p>
1-PM22	<p>酸化ストレスはマウス顎関節由来線維芽細胞様滑膜細胞において MEK/ERK 依存的に CXCL15 mRNA の発現を増強する</p> <p>○浅沼 莞奈<sup>1</sup>, 横田 聖司<sup>2</sup>, 帖佐 直幸<sup>2</sup>, 佐藤 和朗<sup>1</sup>, 石崎 明<sup>2</sup> (岩医大 歯 矯正, <sup>2</sup>岩医大 歯 生化)</p>
1-PM23	<p>生体活性ガラス含有根管用セメント上での蛍光発色ブタ不死化歯髄細胞の培養</p> <p>○中道 匠<sup>1</sup>, 山本 竜司<sup>2</sup>, 大熊理紗子<sup>2</sup>, 唐木田丈夫<sup>2</sup>, 山越 康雄<sup>2</sup>, 細矢 哲康<sup>1</sup> (鶴大 歯 歯内, <sup>2</sup>鶴大 歯 生化)</p>
1-PM24	<p>顎顔面形成における Fat1 の役割</p> <p>○邵 文華, 毛利 安宏, 工藤 保誠 (徳大 院医歯薬 口腔生命科学)</p>
1-PM25	<p>骨芽細胞分化における細胞老化の影響</p> <p>○松井 龍一<sup>1</sup>, 上原 俊介<sup>2</sup>, 宇田川信之<sup>3</sup>, 小林 泰浩<sup>3</sup> (松歯大 院 総歯研, <sup>2</sup>松歯大 生化, <sup>3</sup>松歯大 総歯研)</p>
1-PM26	<p>細胞外 pH は骨細胞による骨代謝回調節を制御する</p> <p>○天田かおり<sup>1</sup>, 宮本 洋一<sup>2</sup>, 上條竜太郎<sup>2</sup> (昭大 歯 口腔外科 顎顔面口腔外科, <sup>2</sup>昭大 歯 口腔生化)</p>
1-PM27	<p>パーキンソン病病態と関連した破骨細胞分化を促進する新たな脱ユビキチン化経路の同定</p> <p>○千葉 満生<sup>1</sup>, 星川 聖良<sup>1</sup>, 齋藤 幹<sup>1</sup>, 千葉 雄太<sup>2</sup>, 山田 亜矢<sup>1</sup>, 福本 敏<sup>1,2</sup> (東北大 院歯 小児歯, <sup>2</sup>九大 院歯 小児口腔)</p>

生理学 (モリタ賞応募) . . . . .

1-PM28	<p>味覚嫌悪学習による不味と不安の表出は分界条床核の神経活動抑制によって増強される</p> <p>○菊池 媛美<sup>1</sup>, 乾 賢<sup>1</sup>, 蘇 韶懿<sup>1</sup>, 船橋 誠<sup>1</sup> (北大 院歯 口腔生理, <sup>2</sup>北大 院歯 矯正)</p>
1-PM29	<p>ゲーピング反応測定によるエメチン誘発条件付け悪心の解析</p> <p>○蘇 韶懿, 菊池 媛美, 吉澤 知彦, 乾 賢, 船橋 誠 (北大 院歯 口腔生理)</p>
1-PM30	<p>歯根膜固有感覚を支配する三叉神経中脳路核ニューロンの機械感受性の検討</p> <p>○権 洗真<sup>1,2</sup>, 黄地 健仁<sup>2</sup>, 木村 麻記<sup>2</sup>, 中村 史朗<sup>3</sup>, 井上 富雄<sup>3</sup>, 澁川 義幸<sup>2</sup>, 一戸 達也<sup>1</sup> (東歯大 麻酔, <sup>2</sup>東歯大 生理, <sup>3</sup>昭大 歯 口腔生理)</p>
1-PM31	<p>ウレタン麻酔下のモルモットにおける脳波変化と顎運動の関連</p> <p>○桂 (淵端) 尚<sup>1</sup>, 片桐 綾乃<sup>1</sup>, 豊田 博紀<sup>1</sup>, 増田 裕次<sup>2</sup>, 加藤 隆史<sup>1</sup> (阪大 院歯 口腔生理, <sup>2</sup>松歯大 院歯 顎口腔機能)</p>
1-PM32	<p>象牙芽細胞における Piezo1-TRPV1 クロストークの検討</p> <p>○倉島 竜哉<sup>1</sup>, 木村 麻記<sup>1</sup>, 黄地 健仁<sup>1</sup>, 黒田 英孝<sup>2</sup>, 澁川 義幸<sup>1</sup> (東歯大 生理, <sup>2</sup>神歯大 院歯 歯科麻酔)</p>
1-PM33	<p>ヒト Merkel 細胞における Piezo1 チャネルの機能的発現</p> <p>○金子 瑠実<sup>1,2</sup>, 黄地 健仁<sup>2</sup>, 木村 麻記<sup>2</sup>, 澁川 義幸<sup>2</sup>, 一戸 達也<sup>1</sup> (東歯大 麻酔, <sup>2</sup>東歯大 生理)</p>
1-PM34	<p>三叉神経中脳路核の末梢ニューロンマーカー・イオンチャネル発現</p> <p>○田上 聖章<sup>1</sup>, 黄地 健仁<sup>2</sup>, 木村 麻記<sup>2</sup>, 倉島 竜哉<sup>2</sup>, 石井 武展<sup>1</sup>, 中村 史朗<sup>3</sup>, 井上 富雄<sup>3</sup>, 澁川 義幸<sup>2</sup>, 西井 康<sup>1</sup> (東歯大 矯正, <sup>2</sup>東歯大 生理, <sup>3</sup>昭大 歯 口腔生理)</p>
1-PM35	<p>光遺伝学的手法による島皮質および内側前頭前野から側坐核への異なる投射様式の解明</p> <p>○廣瀬 健佑<sup>1,2</sup>, 中谷 有香<sup>2</sup>, 北野 晃平<sup>2</sup>, 山本 清文<sup>2</sup>, 白川 哲夫<sup>1</sup>, 小林 真之<sup>2</sup> (日大 歯 小児歯, <sup>2</sup>日大 歯 薬理)</p>
1-PM36	<p>チタン上の骨芽細胞は AMPK 活性促進によりオートファジーを介し骨形成を促進する</p> <p>○江頭 敬<sup>1,2</sup>, 鍛治屋 浩<sup>1,2</sup>, 河野 裕里<sup>1</sup>, 堤 貴司<sup>4</sup>, 大野 純<sup>1</sup>, 加倉 加恵<sup>2</sup>, 城戸 寛史<sup>2</sup> (福歯大 口腔医学研究セ, <sup>2</sup>福歯大 咬合修復 口腔インプラント, <sup>3</sup>福歯大 細胞分子生物 細胞生理, <sup>4</sup>福歯大 総合歯科 訪問歯科)</p>
1-PM37	<p>歯根膜幹細胞におけるメカノセンサー piezo1 チャネルが介在する多様な分化方向</p> <p>○河野 祐里<sup>1,2</sup>, 鍛治屋 浩<sup>1,3</sup>, 江頭 敬<sup>1</sup>, 後藤加寿子<sup>1</sup>, 大野 純<sup>1</sup> (福歯大 口腔医学研究セ, <sup>2</sup>福歯大 成長発達矯正, <sup>3</sup>福歯大 細胞分子生物 細胞生理)</p>
1-PM38	<p>口内炎誘導性疼痛に対する Linalool 香気の鎮痛効果</p> <p>○飯田 理人<sup>1,2</sup>, 人見 涼露<sup>2</sup>, 岩田 幸一<sup>2</sup>, 篠田 雅路<sup>2</sup> (日大 歯 摂食機能, <sup>2</sup>日大 歯 生理)</p>
1-PM39	<p>象牙芽細胞におけるリガンド依存性石灰化駆動</p> <p>○齋藤 菜月<sup>1</sup>, 黄地 健仁<sup>3</sup>, 木村 麻記<sup>3</sup>, 倉島 竜哉<sup>3</sup>, 一戸 達也<sup>2</sup>, 澁川 義幸<sup>3</sup> (東京大 医病院 麻酔科・痛みセ, <sup>2</sup>東歯大 麻酔, <sup>3</sup>東歯大 生理)</p>

1-PM40	Wasabi sulfinyl 誘導体ヘキサラファンはヒト象牙芽細胞の石灰化を促進する ○古澤 誉彰 <sup>1,2</sup> , 木村 麻記 <sup>2</sup> , 黄地 健仁 <sup>2</sup> , 中島 克真 <sup>1,2</sup> , 杉田 誠 <sup>3</sup> , 奥西 勲 <sup>4</sup> , 澁川 義幸 <sup>2</sup> , 古澤 成博 <sup>1</sup> (東歯大 歯内, <sup>2</sup> 東歯大 生理, <sup>3</sup> 広大院医 口腔生理, <sup>4</sup> 金印株式会社)
1-PM41	間葉系幹細胞関連プロテオグリカンの象牙質再生における役割 ○中島 克真 <sup>1,2</sup> , 黄地 健仁 <sup>2</sup> , 木村 麻記 <sup>2</sup> , 古澤 誉彰 <sup>1,2</sup> , 澁川 義幸 <sup>2</sup> , 古澤 成博 <sup>1</sup> (東歯大 歯内, <sup>2</sup> 東歯大 生理)
1-PM42	血管内皮細胞における CGRP 受容体の発現と受容体活性化による細胞内 cAMP レベルの動態解析 ○岩崎 亮 <sup>1</sup> , 黄地 健仁 <sup>2</sup> , 西山 明宏 <sup>1</sup> , 木村 麻記 <sup>2</sup> , 黒田 英孝 <sup>3</sup> , 澁川 義幸 <sup>2</sup> , 片倉 朗 <sup>1</sup> (東歯大 口腔病態外, <sup>2</sup> 東歯大 生理, <sup>3</sup> 神歯大 院歯 歯科麻酔)

留学生 (モリタ賞応募) . . . . .

1-PMI1	鼻中隔発生における Gata3 の役割 ○サハ ミトン, 黒坂 寛, 犬伏 俊博, 山城 隆 (阪大院歯 矯正)
1-PMI2	p130Cas はマウス顎下腺の顆粒性導管細胞分化のための ER-ゴルジネットワークの形成に重要な役割を果たす ○李 傲男 <sup>1</sup> , 高 靖 <sup>1</sup> , 藤井 慎介 <sup>2,3</sup> , 清島 保 <sup>2</sup> , 自見英治郎 <sup>1,4</sup> (九大 院歯 口腔細胞工学, <sup>2</sup> 九大 院歯 口腔病理, <sup>3</sup> 九大 院歯 DDRセ, <sup>4</sup> 九大 院歯 OBTセ)
1-PMI3	テストステロシグナルはミクログリアにおけるオートファジーを増強する ○杜 海妍 <sup>1</sup> , 溝上 顕子 <sup>2</sup> , 兼松 隆 <sup>1</sup> , 佐野 朋美 <sup>1</sup> , 山脇 洋輔 <sup>3</sup> (九大 院歯 口腔機能分子, <sup>2</sup> 九大 院歯 口腔脳機能病態, <sup>3</sup> 第一薬科大 先端薬理)

9月18日(日) 8:30~19:40 ポスター会場

2-PG1	局所麻酔薬の学生実習項目をコンピューターシミュレーションで行うためのモデル式構築 ○荒 敏昭 <sup>1</sup> , 十川 紀夫 <sup>2</sup> (松歯大 薬理, <sup>2</sup> 松歯大 総歯研)
2-PG2	上皮ケラチノサイトのフェノタイプ変化における転写因子 SOX4 の役割 ○長岡 良礼, 武石 幸容, 八田 光世 (福歯大 細胞分子生物 分子機能)
2-PG3	リドカイン塩酸塩水和物における抗酸化作用の検討 ○黒田 英孝 <sup>1</sup> , 吉田 彩佳 <sup>2</sup> , 吉野 文彦 <sup>3</sup> (神歯大 歯 歯科麻酔, <sup>2</sup> 神歯大 歯 総合歯学教育 歯学教育, <sup>3</sup> 神歯大 歯 総合生体機能 歯科薬理)
2-PG4	胎児期からの酵素補充療法が Akp2 <sup>-/-</sup> マウス顎骨に与える影響について ○石束 颯, 高橋 有希, 伊藤慎一郎, 徳山 彰秀, 笠原 正貴 (東歯大 薬理)
2-PG5	バニリンの卓越した UVC 保護効果およびデクチン-2 の発現との相関 ○坂上 宏 <sup>1</sup> , 安部 雅世 <sup>2</sup> , 猪俣 恵 <sup>3</sup> , 魚田 慎 <sup>1,3</sup> , 天野 滋 <sup>1</sup> , 田沼 靖一 <sup>1</sup> (明海大 歯科医学総合研, <sup>2</sup> 明海大 歯 口腔生物再生医工 微生物, <sup>3</sup> 日本三晶製薬株式会社)
2-PG6	(取り下げ)
2-PG7	新型コロナウイルス感染症における舌粘膜の解析 ○坂口和歌子 <sup>1</sup> , 猿田 樹理 <sup>2</sup> , 山本 裕子 <sup>3</sup> , 浜田 信城 <sup>4</sup> , 槻木 恵一 <sup>1</sup> (神歯大 病理 組織形態 環境病理, <sup>2</sup> 神歯大 教育企画, <sup>3</sup> 神歯大短期学部 衛生, <sup>4</sup> 神歯大 微生物)
2-PG8	<i>Fusobacterium nucleatum</i> の誘導による新規歯周病モデルマウスの作製と評価 ○戸田みゆき <sup>1</sup> , 小林 良喜 <sup>2</sup> , 泉福 英信 <sup>2</sup> , 岡田 裕之 <sup>3</sup> (日大院松戸歯, <sup>2</sup> 日大松戸歯 感染免疫, <sup>3</sup> 日大松戸歯 組織)
2-PG9	カフェイン酸フェネチルエステル (CAPE) による抗 CD3 抗体刺激マウス脾細胞のサイトカイン産生調節機構 ○安藤 恵 <sup>1</sup> , 神谷 真子 <sup>2</sup> , 池野久美子 <sup>3</sup> , 上野 恭平 <sup>1</sup> , 梅村 直樹 <sup>1</sup> , 高山 英次 <sup>1</sup> , 川木 晴美 <sup>1</sup> , 中村源次郎 <sup>3</sup> , 近藤 信夫 <sup>1</sup> (朝日大 歯 口腔生化, <sup>2</sup> 朝日大 経営 経営, <sup>3</sup> 株式会社秋田屋本店)
2-PG10	<i>Candida albicans</i> 口腔感染によって誘導される免疫応答の解析 ○豊永 憲司 <sup>1</sup> , 永尾 潤一 <sup>1,2</sup> , 水上 昂 <sup>3</sup> , 田崎 園子 <sup>1</sup> , 岸川 咲吏 <sup>1</sup> , 加地 英美 <sup>1</sup> , 根来香奈江 <sup>1</sup> , 田中 芳彦 <sup>1,2</sup> (福歯大 機能生物 感染生物, <sup>2</sup> 福歯大 口腔医学セ, <sup>3</sup> 福歯大 リサーチスチューデント)
2-PG11	歯周病の病態形成を制御する宿主免疫システムの解明 ○永尾 潤一 <sup>1,2</sup> , 岸川 咲吏 <sup>1</sup> , 豊永 憲司 <sup>1</sup> , 加地 英美 <sup>1</sup> , 根来 (安松) 香奈江 <sup>1</sup> , 田崎 園子 <sup>1</sup> , 田中 芳彦 <sup>1,2</sup> (福歯大 機能生物 感染生物, <sup>2</sup> 福歯大 口腔医学セ)
2-PG12	マウス刺激脾細胞のインターロイキン-2 産生におよぼすミダゾラムの効果 ○神谷 真子 <sup>1</sup> , 高山 英次 <sup>2</sup> , 川木 晴美 <sup>2</sup> , 梅村 直己 <sup>2</sup> , 上野 恭平 <sup>2</sup> , 高橋 萌 <sup>3</sup> , 智原 栄一 <sup>4</sup> , 村松 泰徳 <sup>3</sup> , 近藤 信夫 <sup>2</sup> (朝日大 営 化学, <sup>2</sup> 朝日大 歯 口腔生化, <sup>3</sup> 朝日大 歯 口外, <sup>4</sup> 朝日大 保 総合医科)
2-PG13	特異的光ラベルによる舌下免疫細胞クラスター構成細胞の解明 ○楠本 豊 <sup>1</sup> , 片岡 宏介 <sup>2</sup> (大阪大谷大 薬 免疫, <sup>2</sup> 徳大院医歯薬 口腔保健福祉)
2-PG14	新規免疫チェックポイント分子 ILDR2 の発現 ○張 晨陽, 奥原 滋, 永井 重徳, 東 みゆき (医科歯科大 院医歯 分子免疫)



2-PG15	<i>Porphyromonas gingivalis</i> の Mfa1 線毛構成タンパク質をコードする遺伝子の発現解析 ○藤田 真理, 宮川 博史, 永野 恵司 (北医療大 歯 微生物)
2-PG16	<i>Porphyromonas gingivalis</i> ジンジバインはヒト血管内皮細胞の PAI-1 分解し, 血管内皮の創傷治癒を遅延させる ○多田 浩之 <sup>1</sup> , 西岡 貴志 <sup>2</sup> , 松下 健二 <sup>3</sup> , 菅原 俊二 <sup>1</sup> (1東北大 院歯 口腔分子制御, 2東北大 院歯 リエゾン, 3長寿セ 口腔疾患)
2-PG17	<i>Streptococcus gordonii</i> DL1 はリゾチームに抵抗性を示すことで貪食細胞による殺菌を回避している ○田代有美子 <sup>1</sup> , 才木桂太郎 <sup>1</sup> , 山中 幸 <sup>1</sup> , 石川 結子 <sup>2</sup> , 林田 尚斗 <sup>1</sup> , 内川真由美 <sup>1</sup> , 高橋 幸裕 <sup>1</sup> (1日歯大 生命歯 微生物, 2日歯大病院 総診)
2-PG18	歯周病原細菌感染モデルマウスを用いた神経免疫学的分析 ○岸川 咲吏 <sup>1</sup> , 永尾 潤一 <sup>1,2</sup> , 豊永 憲司 <sup>1</sup> , 加地 英美 <sup>1</sup> , 根来香奈江 <sup>1</sup> , 田崎 園子 <sup>1</sup> , 田中 芳彦 <sup>1,2</sup> (1福歯大 機能生物 感染生物, 2福歯大 口腔医学セ)
2-PG19	マウスガードを用いた誤嚥性肺炎予防のための口腔ケアシステムの開発 ○齋藤 真規 <sup>1</sup> , 岩田 好弘 <sup>2</sup> , 桑原 紀子 <sup>1</sup> , 瀧澤 智美 <sup>1</sup> , 小林 良喜 <sup>1</sup> , 泉福 英信 <sup>1</sup> (1日大松戸歯 感染免疫, 2日大松戸歯 クラウンブリッジ)
2-PG20	カンジダリシンの IL-1 $\beta$ 産生活性は可溶性に影響される ○森 大気, 片岡 嗣雄, 田邊 元, 引頭 毅 (朝日大 歯 口腔微生物)
2-PG21	<i>Porphyromonas gingivalis</i> ジンジバインによる COX-2 発現と PGE2 産生におけるホスホリパーゼの役割 ○中山 真彰 <sup>1,2</sup> , 内藤真理子 <sup>3</sup> , 中山 浩次 <sup>3</sup> , 大原 直也 <sup>1,2</sup> (1岡大 院歯歯薬 口腔微生物, 2岡大 歯先端研セ (AR-COCS), 3長大 院歯歯薬 口腔病原微生物)
2-PG22	歯周病原細菌由来 LPS の細胞内認識機構の解析 ○片岡 嗣雄, 森 大気, 田邊 元, 引頭 毅 (朝日大 歯 口腔微生物)
2-PG23	抗菌ペプチド LL-37 は口腔細菌由来の DNA と結合して分解耐性の複合体を形成する ○田邊 元, 片岡 嗣雄, 森 大気, 引頭 毅 (朝日大 歯 口腔微生物)
2-PG24	Ti-Au 合金と Ti-Cu 合金のバイオフィーム形成抑制能 ○高橋 正敏 <sup>1</sup> , 多田 浩之 <sup>2</sup> , 高田 雄京 <sup>1</sup> (1東北大 院歯 歯科生体材料, 2東北大 院歯 口腔分子制御)
2-PG25	Ti-Pt 合金と Ti-Nb 合金のバイオフィーム形成抑制能 ○高田 雄京 <sup>1</sup> , 多田 浩之 <sup>2</sup> , 高橋 正敏 <sup>1</sup> (1東北大 院歯 歯科生体材料, 2東北大 院歯 口腔分子制御)
2-PG26	<i>Porphyromonas gingivalis</i> の新規遺伝子型 Mfa1 線毛の構造と構成因子の抗原性解析 ○藤本実結菜 <sup>1</sup> , 内記 良一 <sup>2</sup> , 榮 宏太郎 <sup>2</sup> , 三輪 尚慶 <sup>1</sup> , 永野 恵司 <sup>3</sup> , 名和 弘幸 <sup>1</sup> , 長谷川義明 <sup>2</sup> (1愛院大 歯 小児歯, 2愛院大 歯 微生物, 3北医療大 歯 微生物)
2-PG27	DL1 株と結合領域の類似性が低い Hsa アドヘジンホモログを発現する <i>Streptococcus gordonii</i> 株の赤血球凝集特性 ○石川 結子 <sup>1</sup> , 田代有美子 <sup>2</sup> , 山中 幸 <sup>2</sup> , 才木桂太郎 <sup>2</sup> , 林田 尚斗 <sup>2</sup> , 内川真由美 <sup>2</sup> , 高橋 幸裕 <sup>2</sup> (1日歯大病院 総診, 2日歯大 生命歯 微生物)
2-PG28	<i>Candida albicans</i> に対するヒノキチオールの抗真菌作用—germ tube 形成と活性酸素産生に着目して— ○福井佳代子 <sup>1</sup> , 仲村健二郎 <sup>1</sup> , 原 基 <sup>1</sup> , 二宮 一智 <sup>1,2,3</sup> (1日歯大新潟 薬理, 2日歯大 新潟病院 総合診療, 3日歯大新潟病院 口腔外科診療)
2-PG29	口腔細菌間ネットワークが口臭成分メチルメルカプタンの産生を促進する ○原 武史 <sup>1,2</sup> , 久保庭雅恵 <sup>3</sup> , 坂中 哲人 <sup>3</sup> , 天野 敦雄 <sup>3</sup> (1阪大 院歯 先端化粧品, 2株式会社マングラム 基盤研, 3阪大 院歯 予防歯)
2-PG30	S-PRG フィラーから放出されるイオンが <i>Streptococcus pneumoniae</i> に及ぼす抗菌効果 ○田村 宗明 <sup>1,2</sup> , 今井 健一 <sup>1,2</sup> (1日大 歯 感免, 2日大 総歯研 生体防御)
2-PG31	Dectin-1/Syk 経路の活性化がヒト歯根膜線維芽細胞に及ぼす影響 ○猪俣 恵 <sup>1</sup> , 安部 雅世 <sup>1</sup> , 天野 滋 <sup>2</sup> , 坂上 宏 <sup>2</sup> (1明海大 歯 口腔生物再生医工 微生物, 2明海大 歯科医学 総合研)
2-PG32	滑走運動細菌によるバイオフィーム拡張 ○佐藤 啓子 <sup>1</sup> , 近藤 好夫 <sup>2</sup> , 内藤真理子 <sup>3</sup> , 門脇 知子 <sup>1</sup> (1長大 院歯歯薬 フロントティア口腔, 2長大 院歯歯薬 小児歯, 3長大 院歯歯薬 口腔微生物)
2-PG33	滑走細菌の病原性 ○近藤 好夫 <sup>1</sup> , 内藤真理子 <sup>3</sup> , 門脇 知子 <sup>2</sup> , 佐藤 啓子 <sup>2</sup> (1長大 院歯歯薬 小児歯, 2長大 院歯歯薬 フロントティア口腔, 3長大 院歯歯薬 口腔微生物)

9月18日(日) 8:30~19:40 ポスター会場

組織・発生学 (モリタ賞応募) . . . . .

2-PM1	味蕾における Mash1 発現前駆細胞の分化 ○松山 佳永, 片岡 真司, 豊野 孝, 瀬田 祐司 (九歯大 解剖)
-------	---

2-PM2	<p>抜歯窩治癒過程における Gli1 陽性歯根膜細胞の骨形成能 ○藤井 彩貴<sup>1</sup>, 建部 廣明<sup>2</sup>, 溝口 利英<sup>3</sup>, 志茂 剛<sup>1</sup>, 細矢 明宏<sup>2</sup> (北医療大 歯 組織再建口外, <sup>2</sup>北医療大 歯 組織, <sup>3</sup>東歯大 口腔科学研究セ)</p>
2-PM3	<p>歯冠部象牙質における Advanced Glycation End products (AGEs) 蓄積の比較 ○浅見 瑠璃, 林田千代美, 佐藤 卓也, 崎山 浩司 (明海大 歯 解剖)</p>
2-PM4	<p>実験的歯牙移動時における Gli1 陽性歯根膜細胞の分化機構の解析 ○関 有里<sup>1,2</sup>, 建部 廣明<sup>1</sup>, 溝口 利英<sup>3</sup>, 入江 一元<sup>4</sup>, 細矢 明宏<sup>1</sup> (北医療大 歯 組織, <sup>2</sup>北医療大 歯 矯正, <sup>3</sup>東歯大 口腔科研, <sup>4</sup>北医療大 歯 解剖)</p>
2-PM5	<p>骨芽細胞分化における TGF-<math>\beta</math>/MAPK シグナル伝達の解析 ○Wang Ting Hsuan<sup>1</sup>, 渡辺 清子<sup>2</sup>, 浜田 信城<sup>3</sup>, 石井 信之<sup>1</sup> (神歯大 院歯 歯内療法, <sup>2</sup>神歯大 院歯 教養教育, <sup>3</sup>神歯大 院歯 口腔細菌)</p>
2-PM6	<p>GPI アンカー型タンパク質 Lypd1 は、前象牙芽細胞特異的に発現し象牙芽細胞分化を制御する ○傅 堯, 宮崎佳奈子<sup>1</sup>, 吉崎 恵悟<sup>1</sup>, 千葉 雄太<sup>2</sup>, 川原 純平<sup>1</sup>, 湯田 智美<sup>1</sup>, 田 甜<sup>1</sup>, 水田 敢士<sup>1</sup>, 福本 敏<sup>2</sup>, 高橋 一郎<sup>1</sup> (九大 院歯 矯正, <sup>2</sup>九大 院歯 小児口腔)</p>
2-PM7	<p>Gli1 陽性歯髓細胞の象牙質再生過程における機能解析 ○高濱 暁<sup>1,2</sup>, 関 有里<sup>2,3</sup>, 佐藤 幸平<sup>2</sup>, 建部 廣明<sup>2</sup>, 溝口 利英<sup>4</sup>, 八若 保孝<sup>1</sup>, 細矢 明宏<sup>2</sup> (北大 院歯 小児 障害者歯, <sup>2</sup>北医療大 歯 口腔構造 機能発育 組織, <sup>3</sup>北医療大 歯 口腔構造 機能発育 歯科矯正, <sup>4</sup>東歯大 口腔科学研究セ)</p>
2-PM8	<p>髄床底部への意図的穿孔形成がマウス歯の再植後の歯髓静的幹細胞動態に及ぼす影響 ○佐野 拓人<sup>1,2</sup>, 大島 邦子<sup>3</sup>, 岡田 康男<sup>2</sup>, 佐藤 拓一<sup>1</sup>, 大島 勇人<sup>4</sup> (新潟大 院保健 臨床化学, <sup>2</sup>日歯大新潟 病理, <sup>3</sup>新潟大 院医歯 小児歯, <sup>4</sup>新潟大 院医歯 硬組織形態)</p>
2-PM9	<p>セマフォリン系とネトリン系のシグナル経路を介した舌下神経軸索誘導 ○埴 太有<sup>1</sup>, 田谷 雄二<sup>1</sup>, 佐々木康成<sup>2</sup>, 川本沙也華<sup>1</sup>, 工藤 朝雄<sup>1</sup>, 佐藤かおり<sup>1</sup>, 添野 雄一<sup>1</sup> (日歯大 生命歯 病理, <sup>2</sup>神奈川こども医療セ 臨床研 歯科)</p>
2-PM10	<p>脱細胞化唾液腺組織を応用した人工唾液腺の作出 ○大沼慎太郎, 美島 健二, 安原 理佳, 田中 準一, 行森 茜 (昭大 院歯 口腔病理)</p>
2-PM11	<p>ヘパラン硫酸は頭蓋顎顔面形態形成において Wnt シグナリングを制御する ○中西祐一郎, 犬伏 俊博, 岡 綾香, 黒坂 寛, 山城 隆 (阪大 院歯 矯正)</p>
2-PM12	<p>TGF-<math>\beta</math> は、Semaphorin signal と協調して上皮間葉転換を制御することで Hertwig 上皮鞘の維持とマラッセ上皮遺残を形成する ○東根まりい<sup>1</sup>, 池崎晶二郎<sup>2</sup>, 熊上 深香<sup>2</sup>, 荒井 春乃<sup>3</sup>, 山田 浩之<sup>1</sup>, 大津 圭史<sup>2</sup>, 原田 英光<sup>2</sup> (岩医大 歯 口外, <sup>2</sup>岩医大 解剖 発生再生, <sup>3</sup>岩医大 歯 小児障害歯)</p>
2-PM13	<p>歯特異的転写因子 AmeloD 結合タンパク質の酵母 Two-Hybrid 法によるスクリーニング ○岡 桜恵<sup>1</sup>, 佐藤 浩<sup>1</sup>, 千葉 雄太<sup>1</sup>, 吉崎 恵悟<sup>3</sup>, 福本 敏<sup>1,2</sup> (九大 院歯 小児口腔, <sup>2</sup>東北大 院歯 小児歯, <sup>3</sup>九大 院歯 矯正)</p>
2-PM14	<p>喫煙によるアリルハイドロカーボン受容体を介した口蓋粘膜創傷治癒破綻メカニズムの解明 ○浜田 勇作, 井澤 俊, 吉川 友理, 上岡 寛 (岡大 院医歯薬 歯科矯正)</p>
2-PM15	<p>ラット大唾液腺介在部導管周囲における線維芽細胞の特異的配列 ○小野澤 豪<sup>1,2</sup>, 長坂 新<sup>1</sup>, 坂東 康彦<sup>1</sup>, 天野 修<sup>1</sup> (明海大 歯 組織, <sup>2</sup>明海大 歯 口腔顎顔面外科)</p>
2-PM16	<p>Slc26a2 トランスポーターは上顎臼歯における象牙芽細胞の分化に必要である ○吉田 侑加, 犬伏 俊博, 岡 綾香, 山城 隆 (阪大 院歯 矯正)</p>
2-PM17	<p>3次元培養間葉系幹細胞集塊を用いた骨髄脂肪組織様 in vitro モデルの開発 ○吉野 舞<sup>1</sup>, 加治屋幹人<sup>1,2</sup>, 吉井 寛毅<sup>1</sup> (広大 院医 歯周, <sup>2</sup>広大 病院歯 口腔先端治療開発)</p>
2-PM18	<p>低酸素環境が成熟エナメル芽細胞に及ぼす影響 ○荒井 春乃<sup>1</sup>, 稲葉 陽<sup>1</sup>, 池崎晶二郎<sup>2</sup>, 熊上 深香<sup>2</sup>, 東根まりい<sup>3</sup>, 森川 和政<sup>1</sup>, 原田 英光<sup>2</sup>, 大津 圭史<sup>2</sup> (岩医大 歯 口腔保健 小児・障害歯, <sup>2</sup>岩医大 解剖 発生再生, <sup>3</sup>岩医大 歯 口外)</p>
2-PM19	<p>副交感神経から分泌されるアセチルコリン (ACh) が、唾液腺の発生過程で筋上皮細胞の分化誘導と機能的器官内配置を決定している ○真藤 裕基<sup>1</sup>, 若森 実<sup>2</sup>, 中井 淳一<sup>3</sup>, 中村 卓史<sup>2</sup> (東北大 病院, <sup>2</sup>東北大 院歯 歯科薬理, <sup>3</sup>東北大 院歯 口腔生理)</p>

微生物学 (モリタ賞応募) . . . . .

2-PM20	<p><i>Porphyromonas gingivalis</i> の <i>mfa1</i> 下流因子の遺伝子型解析 ○榮 宏太郎<sup>1</sup>, 永野 恵司<sup>2</sup>, 藤本実結菜<sup>3</sup>, 長谷川義明<sup>1</sup> (愛院大 歯 微生物, <sup>2</sup>北医療大 歯 微生物, <sup>3</sup>愛院大 歯 小児歯)</p>
2-PM21	<p>ファージ由来遺伝子領域の脱落した <i>Treponema denticola</i> ATCC35405 変異株の解析 ○横川 正治<sup>1</sup>, 藤田 真理<sup>2</sup>, 宮川 博史<sup>2</sup>, 永野 恵司<sup>2</sup> (北医療大 歯 矯正, <sup>2</sup>北医療大 歯 微生物)</p>

2-PM22	HOMA(ヒト口腔細菌定着)マウスモデルを用いた口腔常在菌による肺炎増悪誘導の解析 ○林 真奈美 <sup>1,2</sup> , 桑田 啓貴 <sup>1</sup> (昭大 歯 口腔微生物, <sup>2</sup> 昭大 歯 麻酔)
2-PM23	<i>Porphyromonas gingivalis</i> を標的とした近赤外線抗微生物ターゲット療法の開発 ○丸山 裕 <sup>1</sup> , 酒井 陽 <sup>2</sup> , 小間 義朗 <sup>1</sup> , 董 嬌 <sup>1,3</sup> , 劉 柯宏 <sup>1</sup> , 渡邊 純奈 <sup>1</sup> , 坂口 晃平 <sup>2</sup> , 日比 英晴 <sup>1,2</sup> (大 院医 頭頸部・感覚器外科 顎顔面外科, <sup>2</sup> 名大 医病院 歯科口外, <sup>3</sup> ルンド大)
2-PM24	タバコ抽出液は歯肉上皮細胞のバリア機能を低下させる ○山賀 俊介, 竹内 洋輝, 天野 敦雄 (阪大 歯 予防)
2-PM25	口腔カンジダ症の病態を制御する病原真菌カンジダ由来の抗原の探索 ○加地 英美 <sup>1,2</sup> , 豊永 憲司 <sup>1</sup> , 田崎 園子 <sup>1</sup> , 永尾 潤一 <sup>1,3</sup> , 岸川 咲吏 <sup>1</sup> , 田中 芳彦 <sup>1,3</sup> (福歯大 機能生物 感染生物, <sup>2</sup> 福歯大 診断・全身管理 麻酔, <sup>3</sup> 福歯大 口腔医療セ)
2-PM26	口腔扁平上皮癌細胞における Deferriferrichrysin の細胞死誘導効果 ○谷 暢 <sup>1</sup> , 井関 富雄 <sup>1</sup> , 沖永 敏則 <sup>2</sup> , 真下 千穂 <sup>2</sup> , 南部 隆之 <sup>2</sup> , 円山 由郷 <sup>2</sup> (大歯大 院歯 口外一, <sup>2</sup> 大歯大 細菌)
2-PM27	健康な地域在住成人における舌細菌叢の年齢別特徴 ○朝川美加李 <sup>1</sup> , 竹下 徹 <sup>1,2</sup> , 影山 伸哉 <sup>1</sup> , 山下 喜久 <sup>1</sup> (九大 院歯 口腔予防, <sup>2</sup> 九大 院歯 OBT 研究セ)
2-PM28	母乳育児が乳児の口腔マイクロバイオームの早期成熟を妨げる ○影山 伸哉, 竹下 徹, 馬 佳楽, 朝川美加李, 山下 喜久 (九大 院歯 口腔予防)
2-PM29	<i>Scardovia wiggsiae</i> の増殖促進因子の検討 ○亀田 真衣 <sup>1,2</sup> , 安彦 友希 <sup>1</sup> , 鷲尾 純平 <sup>1</sup> , 佐藤 聡子 <sup>1</sup> , 高橋 信博 <sup>1</sup> (東北大 院歯 口腔生化, <sup>2</sup> 東北大 院歯 顎 口腔矯正)
2-PM30	口腔から分離されたセファロスポリン耐性グラム陰性菌に対する消毒剤感受性 ○春田 梓 <sup>1</sup> , 松尾 美樹 <sup>2,3</sup> , 吉川 峰加 <sup>1</sup> , 竹内 真帆 <sup>1</sup> , Le Nguyen Tra Mi <sup>2,3</sup> , 津賀 一弘 <sup>1</sup> , 小松澤 均 <sup>2,3</sup> (広大 院医 補綴, <sup>2</sup> 広大 院医 細菌, <sup>3</sup> 広大 院内感染症プロジェクト研究セ)
2-PM31	表皮ブドウ球菌が産生するヌカシンに対するう蝕原性細菌 <i>Streptococcus mutans</i> の耐性メカニズム ○貞岡 直樹 <sup>1</sup> , 松尾 美樹 <sup>2</sup> , Le Mi <sup>2</sup> , 柴 秀樹 <sup>1</sup> , 小松澤 均 <sup>2</sup> (広大 院医 歯髄生物, <sup>2</sup> 広大 院医 細菌)
2-PM32	歯周病原菌の外膜小胞がもたらすアルツハイマー型認知症発症機構の解明 ○吉田 佳世 <sup>1</sup> , 吉田 賀弥 <sup>2</sup> , 瀬山真莉子 <sup>1</sup> , 尾崎 和美 <sup>1</sup> (徳大 院医歯薬 口腔保健支援, <sup>2</sup> 徳大 院医歯薬 口腔保健 教育)
2-PM33	肺炎球菌を感染させた三次元肺組織モデルにおける上皮バリアの機能障害と炎症応答の解析 ○赤松由佳子 <sup>1,2</sup> , 住友 倫子 <sup>1</sup> , 高原 悠樹 <sup>1,3</sup> , 山口 雅也 <sup>1</sup> , 中田 匡宣 <sup>4</sup> , 明石 満 <sup>5</sup> , 川端 重忠 <sup>1</sup> (阪大 院歯 口腔細菌, <sup>2</sup> 阪大 院歯 障害歯, <sup>3</sup> 阪大 院歯 クラウンブリッジ, <sup>4</sup> 鹿大 院医歯 口腔微生物, <sup>5</sup> 阪大)
2-PM34	口腔扁平上皮癌細胞の3次元培養法の確立と評価 ○池田 礼子 <sup>1,2</sup> , 岩永賢二郎 <sup>2</sup> , 山崎 亮太 <sup>1</sup> , 吉岡 香絵 <sup>1</sup> , 有吉 渉 <sup>1</sup> (九歯大 感染分子生物, <sup>2</sup> 九歯大 口腔内科)

病理学 (モリタ賞応募) . . . . .

2-PM35	シェーグレン症候群モデルマウス肺病変におけるケモカインの機能分析 ○佐藤 真美, 大塚 邦紘, 常松 貴明, 石丸 直澄 (徳大 院医歯薬 口腔分子病態)
2-PM36	Photodynamic Therapy に最適なアップコンバージョン粒子と腫瘍親和性光感受性物質との組合せ濃度 ○崔 晋豪, 磯野 治実, 岡村 友玄, 富永 和也 (大歯大 口腔病理)
2-PM37	ChIP-seq を用いた胎生期マウス顎下腺組織における Foxc1 による発現制御遺伝子の網羅的解析 ○行森 茜 <sup>1</sup> , 田中 準一 <sup>1</sup> , 大沼慎太郎 <sup>1</sup> , 安原 理佳 <sup>1</sup> , 大庭 伸介 <sup>2</sup> , 美島 健二 <sup>1</sup> (昭大 歯 口腔病理, <sup>2</sup> 阪大 院歯 口腔解剖一)
2-PM38	Wnt 経路は YAP1-TGF-β 経路を介して歯胚の発生を促進する ○長野 良子 <sup>1,2</sup> , 藤井 慎介 <sup>1,3</sup> , 清島 保 <sup>1</sup> (九大 院歯 口腔病理, <sup>2</sup> 九大 院歯 保存, <sup>3</sup> 九大 院歯 DDR 研究セ)
2-PM39	内因性 AhR リガンド FICZ による Cyp1a1 を介した破骨細胞分化および骨代謝調節機構の解析 ○吉川 友理, 井澤 俊, 上岡 寛 (岡大 院医歯薬 矯正)
2-PM40	母親の <i>Porphyromonasgingivalis</i> 菌性感染が子の脳組織に与える影響 ○石田 えり <sup>1</sup> , 古庄 寿子 <sup>2</sup> , 芝 典江 <sup>2</sup> , 津賀 一弘 <sup>1</sup> , 宮内 睦美 <sup>2</sup> (広大 院医 補綴, <sup>2</sup> 広大 院医 口腔顎顔面病理病態)
2-PM41	組織修復性 M2 マクロファージの全身的細胞移植がマウス BRONJ 様病変の組織治癒に与える影響の検索 ○小堤 涼平, 黒嶋伸一郎, 佐々木宗輝 (長大 院医歯薬 インプラント)
2-PM42	唾液腺発生と腺様嚢胞癌腫瘍形成における軸索誘導因子 Semaphorin 3A (Sema3A) の役割の解明 ○藤本 龍史 <sup>1,2</sup> , 藤井 慎介 <sup>2,3</sup> , 清島 保 <sup>2</sup> (九大 院歯 口腔顎顔面外科, <sup>2</sup> 九大 院歯 口腔病理, <sup>3</sup> 九大 院歯 DDR 研究セ)
2-PM43	SARS-CoV-2 感染マウスを用いた肺血管内皮細胞の重症化関連遺伝子の解析 ○武田 遼 <sup>1,2</sup> , 間石 奈湖 <sup>1</sup> , 樋田 京子 <sup>1</sup> (北大 院歯 口腔病態 血管生物分子病理, <sup>2</sup> 北大 院歯 口腔病態 口腔 診断内科)



2-PM44	抜歯窩と大腿骨骨欠損部の治癒過程から探る骨格部位依存的な幹細胞の多様性 ○伊藤慎一郎 <sup>1</sup> , 笠原 典夫 <sup>2</sup> , 北村 啓 <sup>2</sup> , 松永 智 <sup>3</sup> , 溝口 利英 <sup>4</sup> , 笠原 正貴 <sup>1</sup> , 山口 朗 <sup>4</sup> (東歯大 薬理, 東歯大 組織・発生, 東歯大 解剖, 東歯大 口腔科学研究セ)
2-PM45	シスチントランスポーター xCT に対する阻害剤は FOXA1 低発現口腔扁平上皮癌に対して抗腫瘍効果を示す ○岡崎 章悟, 今井 健一 (日大 歯 感染免疫)
2-PM46	ヒト多能性幹細胞由来神経堤細胞を用いた歯根膜再生の基盤研究 ○高橋 侑嗣 <sup>1,2</sup> , 安原 理佳 <sup>1</sup> , 田中 準一 <sup>1</sup> , 榎 宏太郎 <sup>2</sup> , 美島 健二 <sup>1</sup> (昭大 歯 口腔病理, 昭大 歯 矯正)
2-PM47	国産耐熱性養殖サンゴ外骨格を骨補填材として実験的一貫性骨欠損に用いた効果 ○池田 隼人 <sup>1,2,3</sup> , 岡村 友玄 <sup>3</sup> , 西川 哲也 <sup>4</sup> , 富永 和也 <sup>3</sup> , 井関 富雄 <sup>2</sup> (大歯大 院歯 口外(1), 大歯大 口外, 大歯大 口病, 大歯大 歯科医学教育開発セ)
2-PM48	髄床底穿孔部におけるケイ酸カルシウムセメント (Biodentine) の歯根膜組織の骨形成能に関する <i>in vitro</i> , <i>in vivo</i> 的探索 ○江澤 奈穂 <sup>1,2</sup> , 明石 良彦 <sup>2</sup> , 中島 啓 <sup>2</sup> , 國分 克寿 <sup>2</sup> , 松坂 賢一 <sup>2</sup> , 古澤 成博 <sup>1</sup> (東歯大 院歯 歯内, 東歯大 院歯 病理)
2-PM49	シングルセル RNA-seq とマルチプレックス Spatial 解析を基盤としたシェーグレン症候群の標的臓器微小環境変化の解明 ○大塚 邦紘 <sup>1,2,3</sup> , 近藤 博之 <sup>2</sup> , 九十九伸一 <sup>2,3</sup> , 新垣理恵子 <sup>1</sup> , 佐藤 真美 <sup>1</sup> , 常松 貴明 <sup>1</sup> , 石丸 直澄 <sup>1</sup> , 安友 康二 <sup>2,3</sup> (徳大 院歯薬 口腔分子病態, 徳大 院歯薬 生体防御医学, 徳大 pLED 医光融合)
2-PM50	(取り下げ)
2-PM51	低出力 LED 光照射がラット骨髄由来骨芽細胞様細胞に与える効果の基礎的研究 ○服部 剛大 <sup>1</sup> , 伊藤由有希 <sup>1</sup> , 鈴木 季功 <sup>1</sup> , 磯村まどか <sup>1,2</sup> , 河合 遼子 <sup>1,3</sup> , 吉田 和加 <sup>1,3</sup> , 杉田 好彦 <sup>1,3</sup> , 久保 勝俊 <sup>1,3</sup> , 前田 初彦 <sup>1,3</sup> (愛院大 歯 口腔病理・法歯, 藤田医大 医 病理診断, 愛院大 院歯 未来口腔医療研究セ)
2-PM52	口腔扁平上皮癌におけるエピジェネティクス薬剤の腫瘍抑制効果の検討 ○高橋 周平, 吉田 光希, 安彦 善裕 (北医療大 歯 臨床口腔病理)
2-PM53	ヒト皮膚ケラチノサイトへの UVB 照射によるビーポーレンの有効性 ○フレルチウルーン アリウンツェツェグ <sup>1,2</sup> , 高橋 周平 <sup>1</sup> , 吉田 光希 <sup>1</sup> , 安彦 善裕 <sup>1</sup> (北医療大 歯 臨床口腔病理, 北医療大 歯 顎顔面口外)
2-PM54	口腔癌における cholinetransporter like protein 1 (CTL1) の局在および細胞増殖との関連 ○橋本 菜央 <sup>1</sup> , 中島 啓 <sup>2</sup> , 明石 良彦 <sup>2</sup> , 國分 克寿 <sup>2</sup> , 菅原 圭亮 <sup>1</sup> , 片倉 朗 <sup>1</sup> , 松坂 賢一 <sup>2</sup> (東歯大 口腔病態外, 東歯大 病理)

薬理学 (モリタ賞応募) . . . . .

2-PM55	GM2/GD2 合成酵素遺伝子欠損マウスでは骨形成が低下する ○佐々木恵理 <sup>1,2</sup> , 三島 好貴 <sup>1</sup> , 佐藤 琢麻 <sup>2</sup> , 宮澤 健 <sup>2</sup> , 後藤 滋巳 <sup>2</sup> , 浜村 和紀 <sup>1</sup> (愛院大 歯 薬理, 愛院大 歯 矯正)
2-PM56	2-methoxy-4-vinylphenol の RAW264.7 細胞における抗炎症活性には HO-1 による iNOS 転写抑制が関与する ○浅見 栄里 <sup>1,3</sup> , 北見 恩美 <sup>1</sup> , 井田 貴子 <sup>2</sup> , 小林 正治 <sup>3</sup> (新潟大 院歯 歯科薬理, 新潟大 院歯 口腔健康科学 う蝕, 新潟大 院歯 顎顔面再建 組織再建口腔外科)
2-PM57	がん進展におけるイタコン酸の役割 ○佐伯 彩華 <sup>1</sup> , 林 慶和 <sup>1,2</sup> , 自見英治郎 <sup>1</sup> , 安河内 (川久保) 友世 <sup>1</sup> (九大 院歯 OBT 研究セ, 福歯大 機能構造)
2-PM58	妊娠マウスへの骨吸収抑制薬投与は仔マウスの歯の成長障害をもたらす ○山口 真帆 <sup>1,2,3</sup> , 坂井 信裕 <sup>4</sup> , 唐川亜希子 <sup>2,3</sup> , 茶谷 昌宏 <sup>2,3</sup> , 畔津 佑季 <sup>2,3</sup> , 高見 正道 <sup>2,3</sup> (昭大 歯 小児成育歯, 昭大 歯 歯科薬理, 昭大 薬理科学研究セ, 昭大 歯 歯学教育)
2-PM59	マウス唾液腺・涙腺におけるアルギナーゼ 1 の外分泌能調節メカニズムの解明 ○大野 雄太 <sup>1</sup> , 長瀬 春奈 <sup>1</sup> , 佐藤慶太郎 <sup>2</sup> , 設楽 彰子 <sup>1</sup> , 中本 哲自 <sup>3</sup> , 柏俣 正典 <sup>1</sup> (朝日大 歯 薬理, 明海大 歯 薬理, 朝日大 歯 インプラント)
2-PM60	歯の移動に伴う疼痛に対する TRP チャネル拮抗薬の併用歯肉塗布の効果 ○湯川 未郷 <sup>1</sup> , 佐藤慶太郎 <sup>2</sup> , 須田 直人 <sup>1</sup> , 安達 一典 <sup>2</sup> (明海大 歯 矯正, 明海大 歯 薬理)
2-PM61	ビスホスホネート製剤の投与が、軽症低ホスファターゼ症の大腿骨に与える影響 ○高橋 有希 <sup>1</sup> , 平井 研吾 <sup>2</sup> , 松永 智 <sup>3</sup> , 笠原 典夫 <sup>4</sup> , 阿部 伸一 <sup>3</sup> , 新谷 誠康 <sup>2</sup> , 笠原 正貴 <sup>1</sup> (東歯大 薬理, 東歯大 小児歯, 東歯大 解剖, 東歯大 組織発生)
2-PM62	低分子量 G タンパク質 Cdc42 は耳下腺と涙腺で異なるメカニズムにより AQP5 発現量を制御する ○長瀬 春奈 <sup>1</sup> , 大野 雄太 <sup>1</sup> , 佐藤慶太郎 <sup>2</sup> , 柏俣 正典 <sup>1</sup> , 設楽 彰子 <sup>1</sup> (朝日大 歯 薬理, 明海大 歯 薬理)
2-PM63	脂肪組織炎症を制御する microRNA の同定 ○Elsheikh Malaz <sup>1</sup> , 佐野 朋美 <sup>2</sup> , 溝上 顕子 <sup>3</sup> , 兼松 隆 <sup>2</sup> (九大 院歯 口腔機能分子, 九大 院歯 口腔機能分子, 九大 院歯 OBT セ)
2-PM64	アクアポリン 5 レベルの異なるラット系統におけるアセチルコリンによる唾液分泌に対する血流動態の役割 ○エムエスティ アッタータミナ, 根津 顕弘, 谷村 明彦 (北医療大 歯 薬理)



9月19日(月) 8:40~16:20 ポスター会場

3-PG1	マウス胎子を用いた口蓋突起挙上に関わる遺伝子発現領域の時空間的变化の解析 ○長坂 新 <sup>1</sup> , 崎山 浩司 <sup>2</sup> , 坂東 康彦 <sup>1</sup> , 小野澤 豪 <sup>3</sup> , 天野 修 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 明海大 歯 組織, <sup>2</sup> 明海大 歯 解剖, <sup>3</sup> 明海大 歯 口腔顎顔面外科)
3-PG2	マウス舌の形態形成と細胞挙動 ○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)
3-PG3	転写因子 Nfix による胎生期マウスの舌筋分化制御 ○佐藤かおり <sup>1</sup> , 川本沙也華 <sup>1</sup> , 田谷 雄二 <sup>1</sup> , 佐々木康成 <sup>2</sup> , 埴 太宥 <sup>1</sup> , 坪崎 健斗 <sup>1</sup> , 工藤 朝雄 <sup>1</sup> , 添野 雄一 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 日歯大 生命歯 病理, <sup>2</sup> 神奈川こども医療セ 臨床研 歯科)
3-PG4	歯の発生期と象牙芽細胞再生時における NG2 陽性細胞の挙動 ○黄地 健仁 <sup>1</sup> , 倉島 竜哉 <sup>1</sup> , 木村 麻記 <sup>1</sup> , 黒田 英孝 <sup>2</sup> , 溝口 利英 <sup>3</sup> , 澁川 義幸 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 東歯大 生理, <sup>2</sup> 神歯大 院歯 歯科麻酔, <sup>3</sup> 東歯大 口科研)
3-PG5	味蕾の基底細胞は mTOR シグナリングを介して体内栄養状態をモニターする ○高井 信吾 <sup>1</sup> , 岩田 周介 <sup>1,2</sup> , 實松 敬介 <sup>1,2,3</sup> , 川端 由子 <sup>4</sup> , 平山 彩夏 <sup>1,5</sup> , 渡邊 雄 <sup>1,6</sup> , 重村 憲徳 <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> 九大 院歯 口腔機能解析, <sup>2</sup> 九大 五感応用デバイス研究開発セ, <sup>3</sup> 九大 OBT 研究セ, <sup>4</sup> 九大 院歯 口腔機能分子科学, <sup>5</sup> 九大 院歯 歯科矯正, <sup>6</sup> 九大 インプラント・義歯補綴)
3-PG6	マウス顎顔面形態形成過程における一次繊毛関連遺伝子の機能 ○中富 満城 <sup>1</sup> , 松山 佳永 <sup>2</sup> , 片岡 真司 <sup>2</sup> , 豊野 孝 <sup>2</sup> , 瀬田 祐司 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 産業医大 産業保健 人間情報科学, <sup>2</sup> 九歯大 歯 解剖)
3-PG7	唾液エクソソームの調製法と舌がん由来細胞株エクソソームとの比較 ○今井あかね <sup>1</sup> , 竹澤 晴香 <sup>2</sup> , 岡 俊哉 <sup>3</sup> , 辻村麻衣子 <sup>4</sup> ( <sup>1</sup> 日歯大 新潟短大 歯科衛生, <sup>2</sup> 日歯大新潟 生化, <sup>3</sup> 日歯大新潟 生物, <sup>4</sup> 日歯大新潟 解剖 2)
3-PG8	耳下腺腺房細胞における分泌タンパク質の選別機構 ○吉垣 純子, 横山 愛, 加藤 治 (日大松戸歯 生理)
3-PG9	BMP2 は耳下腺初代培養細胞の細胞増殖能を高める ○横山 愛, 加藤 治, 吉垣 純子 (日大松戸歯 生理)
3-PG10	マウス耳下腺における脂肪酸輸送体 CD36 の発現と唾液分泌への関与 ○佐藤慶太郎 <sup>1</sup> , 大野 雄太 <sup>2</sup> , 長瀬 春奈 <sup>2</sup> , 柏俣 正典 <sup>2</sup> , 安達 一典 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 明海大 歯 薬理, <sup>2</sup> 朝日大 歯 薬理)
3-PG11	アセチルコリン刺激による顎下腺全体で起こる Ca <sup>2+</sup> オシレーションと血流振動の制御メカニズム ○根津 顕弘 <sup>1</sup> , 森田 貴雄 <sup>2</sup> , 石井 久淑 <sup>3</sup> , 谷村 明彦 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 北医療大 歯 薬理, <sup>2</sup> 日歯大新潟 生化, <sup>3</sup> 北医療大 歯 生理)
3-PG12	プロカテプシン B を指標にしたラット耳下腺における新規生成顆粒の分泌能の検討 ○加藤 治, 横山 愛, 吉垣 純子 (日大松戸歯 生理)
3-PG13	米摂取がラット盲腸短鎖脂肪酸濃度と唾液中 IgA レベルに与える影響の解析 ○山本 裕子 <sup>1</sup> , 猿田 樹理 <sup>2</sup> , 坂口和歌子 <sup>3</sup> , 東 雅啓 <sup>4</sup> , 槻木 恵一 <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> 神歯大 短大 歯科衛生, <sup>2</sup> 神歯大 教育企画, <sup>3</sup> 神歯大 病理・組織 環境病理, <sup>4</sup> 神歯大 解剖 口腔解剖)
3-PG14	低分子量 G タンパク質 Cdc42 は唾液腺腺房細胞の形成を制御する ○設楽 彰子, 長瀬 春奈, 大野 雄太, 柏俣 正典 (朝日大 歯 薬理)
3-PG15	三叉神経知覚核群での c-Fos および p-ERK 誘発における末梢神経損傷の影響 ○寺山 隆司, 内部 健太 (広大院医 顎顔面解剖)
3-PG16	ミクログリアにおける miRNA 発現の性差 ○溝上 顕子 <sup>1</sup> , 佐野 朋美 <sup>2</sup> , 山脇 洋輔 <sup>3</sup> , 自見英治郎 <sup>1,4</sup> , 兼松 隆 <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> 九大 院歯 OBT 研究セ, <sup>2</sup> 九大 院歯 口腔機能分子, <sup>3</sup> 第一薬大 薬 薬物治療, <sup>4</sup> 九大 院歯 口腔細胞工学)
3-PG17	間歇的低酸素負荷が発達期の大脳皮質体性感覚野ニューロンの神経活動に及ぼす影響 ○豊田 博紀 <sup>1</sup> , 早田 敦子 <sup>2</sup> , 片桐 綾乃 <sup>1</sup> , 山田 雅治 <sup>1</sup> , 田熊 一敏 <sup>2</sup> , 加藤 隆史 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 阪大院歯 口腔生理, <sup>2</sup> 阪大院歯 薬理)
3-PG18	根管洗浄液である次亜塩素酸ナトリウムによる味覚抑制は濃度依存的吗? ○山崎 真帆 <sup>1</sup> , 田中 雅士 <sup>1</sup> , 碓 哲崇 <sup>2</sup> , 河野 哲 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 朝日大 歯 口腔機能修復 歯科保存, <sup>2</sup> 朝日大 歯 口腔機能修復 口腔生理)
3-PG19	扁桃体中心核の活性化は味覚嫌悪学習による嫌悪を減弱し, 接近行動を増加させる ○乾 賢 <sup>1</sup> , 菊池 媛美 <sup>1,2</sup> , 船橋 誠 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 北大 院歯 口腔生理, <sup>2</sup> 北大 院歯 歯科矯正)

3-PG20	PC-12 細胞において加味逍遙散または加味帰脾湯は WNK-SPAK 経路を介して歯周病菌由来 LPS 処理による KCC2 発現減少を回復させる ○大原由紀子 <sup>1,2</sup> , 古川 紗圭 <sup>1,3</sup> , 五十嵐健人 <sup>1</sup> , 野口 和行 <sup>3</sup> , 杉村 光隆 <sup>2</sup> , 富田 和男 <sup>1</sup> , 佐藤 友昭 <sup>1</sup> (鹿大 院医歯 歯科応用薬理, <sup>2</sup> 鹿大 院医歯 歯科麻酔全身管理, <sup>3</sup> 鹿大 院医歯 歯周病)
3-PG21	閉経後骨粗鬆症モデルマウスの味覚行動の変化 ○川端 由子 <sup>1,2</sup> , 尾池 麻未 <sup>3</sup> , 高井 信吾 <sup>3</sup> , 岩田 周介 <sup>3</sup> , 實松 敬介 <sup>3,4</sup> , 重村 憲徳 <sup>3,4</sup> , 兼松 隆 <sup>2</sup> , 自見英治郎 <sup>1,5</sup> (九大 院歯 口腔細胞工学, <sup>2</sup> 九大 院歯 口腔機能分子, <sup>3</sup> 九大 院歯 口腔機能解析, <sup>4</sup> 九大 五感応用デバイス研究開発セ, <sup>5</sup> 九大 院歯 OBT 研究セ)
3-PG22	生後発達期における閉口筋・開口筋運動ニューロンの興奮性および抑制性シナプス入力 ○中村 史朗 <sup>1</sup> , 野口 毅 <sup>2</sup> , 梶原 里紗 <sup>3</sup> , 中山希世美 <sup>1</sup> , 望月 文子 <sup>1</sup> , 壇辻 昌典 <sup>1</sup> , 井上 富雄 <sup>1</sup> (昭大 歯 口腔生理, <sup>2</sup> 昭大 歯 スペシャルニーズ口腔医学 口腔リハ, <sup>3</sup> 昭大 歯 全身管理 麻酔)
3-PG23	マウスにおける頭相インスリン分泌に関与する機構の解析 ○高盛 充仁, 吉田 竜介 (岡大 院医歯薬 口腔生理)
3-PG24	アデノ随伴ウイルスベクターを用いた, マウス三叉神経脊髄路核から視床に投射するニューロンの特異的標識と光活性化 ○倉本恵梨子, 岩井 治樹, 山中 淳之, 後藤 哲哉 (鹿大 院医歯 形態)
3-PG25	発生工学的トレーニングにより可視化された扁桃体内側核の苦味経路ニューロンで観察される味覚嫌悪学習後の甘味刺激への反応性変化 ○杉田 誠 (広大 院医 口腔生理)
3-PG26	マウスの舌後方に発現する脂肪酸受容体の嗜好性への関与 ○安松 啓子 (東歯大短大)
3-PG27	口腔感覚神経節と脳幹における味覚受容体関連遺伝子の発現について ○諏訪部 武, 安尾 敏明, 裕 哲崇, 中村 文彦, 高橋 慎平 (朝日大 歯 口腔生理)
3-PG28	骨髄腫瘍進展と骨破壊における ELK1-CIP2A の役割 ○関 愛子 <sup>1,2</sup> , 寺町 順平 <sup>1</sup> , 沢 禎彦 <sup>1</sup> (岡大 院医歯薬 口腔機能解剖, <sup>2</sup> 岡大 院医歯薬 麻酔)
3-PG29	口腔細菌が頭頸部癌細胞株に及ぼす影響と予後との関連性 ○西山今日子 <sup>1</sup> , 稲葉 裕明 <sup>2</sup> , 濱田 正和 <sup>1</sup> , 吉田 翔 <sup>2</sup> , 仲野 道代 <sup>2</sup> (阪大 院歯 口外 2, <sup>2</sup> 岡大 院医歯薬 小児歯)
3-PG30	不死化内皮細胞を用いた脈管網オルガノイドゲルによる口腔癌浸潤モデルの検討 ○工藤 朝雄, 坪崎 健斗, 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)
3-PG31	腫瘍微小環境における腫瘍随伴マクロファージの制御機構 ○佐野 朋美 <sup>1</sup> , Du Haiyan <sup>1</sup> , 溝上 顕子 <sup>2</sup> , 兼松 隆 <sup>1</sup> (九大 院歯 口腔機能分子, <sup>2</sup> 九大 院歯 OBT 研究セ)
3-PG32	頭頸部扁平上皮癌における染色体パッセンジャー複合体構成因子 Borealin の新たな機能 ○常松 貴明, 俵 宏彰, 佐藤 真実, 新垣理恵子, 大塚 邦紘, 牛尾 綾, 石丸 直澄 (徳大 院医歯薬 口腔分子病態)
3-PG33	抗炎症作用を有する新規腫瘍選択的 3-ステリルクロモン誘導体の作用機序 ○田沼 靖一, 坂上 宏 (明海大 歯科医学総合研)
3-PG34	スギナ抽出物は LPS 誘発歯周炎モデルラットの破骨細胞形成を抑制する ○芝 典江 <sup>1</sup> , 古庄 寿子 <sup>2</sup> , 高田 隆 <sup>2,3</sup> , 清水 梨加 <sup>4</sup> , 宮内 睦美 <sup>1,2</sup> (広大 院医 口腔炎症制御, <sup>2</sup> 広大 院医 口腔顎顔面病理病態, <sup>3</sup> 周南公立大, <sup>4</sup> アース製薬 (株) 研究部)
3-PG35	ヒトとイヌ歯石の組織構造および組成の比較検討 ○千葉 敏江 <sup>1</sup> , 大熊理紗子 <sup>2</sup> , 見明 康雄 <sup>3</sup> , 三島 弘幸 <sup>4</sup> (鶴大 歯 電顕, <sup>2</sup> 鶴大 歯 生化, <sup>3</sup> 鶴大 歯 解剖, <sup>4</sup> 鶴大 歯 理工)
3-PG36	卵巣摘出ラットモデルにおけるエストロゲンレベルと歯周病進行の相関関係について—HSP70 の増減について— ○天野カオリ <sup>1</sup> , 稲葉啓太郎 <sup>2</sup> , 松尾 雅斗 <sup>1</sup> (神歯大 院歯 解剖, <sup>2</sup> 神歯大 院歯 微生物)
3-PG37	歯周組織治癒過程における PTHrP および PTH1 受容体の遺伝子発現 ○堀部 寛治, 西田 大輔, 中村 浩彰 (松歯大 口腔解剖)
3-PG38	リチウムは虚血性細胞死, 硝子様変性および破骨細胞出現を抑制することで矯正力による歯根吸収を減少させる ○佛坂 齊社 <sup>1</sup> , 森石 武史 <sup>2</sup> , 佛坂 由可 <sup>3</sup> (長大 院医歯薬 矯正, <sup>2</sup> 長大 院医歯薬 細胞生物, <sup>3</sup> 長大 院医歯薬 口腔腫瘍治療)
3-PG39	抗 IL-17 抗体による歯槽骨吸収抑制効果 ○佐藤 武則 <sup>1</sup> , 浜田 信城 <sup>2</sup> , 半田 慶介 <sup>1</sup> (神歯大 院歯 口腔生理, <sup>2</sup> 神歯大 院歯 口腔細菌)
3-PG40	ジルコニアのエキシマ紫外線処理が L929 の初期接着に及ぼす影響 ○明石 良彦, 山本 圭, 中島 啓, 國分 克寿, 下尾 嘉昭, 松坂 賢一 (東歯大 病理)
3-PG41	ペルフルオロオクタン酸はマウス ameloblast 様細胞で ROS/ERK signaling を介した細胞死を誘導する ○藤原奈津美 <sup>1,2</sup> , 尾崎 和美 <sup>1</sup> , 鈴木麻衣子 <sup>2</sup> (徳大 院医歯薬 口腔保健支援, <sup>2</sup> オーガスタ大 ジョージア州立歯学校)

3-PG42	象牙芽細胞のアデニル酸シクラーゼ活性化は $Zn^{2+}$ 感受性 $Ca^{2+}$ チャネルを介した $Ca^{2+}$ 流入を誘発する ○木村 麻記 <sup>1</sup> , 黄地 健仁 <sup>1</sup> , 倉島 竜哉 <sup>1</sup> , 黒田 英孝 <sup>1,2</sup> , 安藤 正之 <sup>1</sup> , 河野 恭佑 <sup>1</sup> , 野村 幸恵 <sup>1</sup> , 澁川 義幸 <sup>1</sup> (東歯大 生理, <sup>2</sup> 神歯大 院歯 歯科麻酔)
3-PG43	ラット臼歯における根分岐部形成過程の3次元的, 免疫組織学的観察 ○菊池 布恵 <sup>1</sup> , 北村 啓 <sup>1</sup> , 笠原 典夫 <sup>1</sup> , 小川 雄大 <sup>1</sup> , 石川 昂 <sup>2</sup> , 山本 将仁 <sup>3</sup> , 阿部 伸一 <sup>3</sup> , 山本 仁 <sup>1</sup> (東歯大 組織・発生, <sup>2</sup> 東歯大 法歯・法人類, <sup>3</sup> 東歯大 解剖)
3-PG44	自己免疫疾患における歯髄感染過程の病理組織学的研究—関節リウマチモデルマウスにおける解析— ○山崎 詩織, 石井 信之, 武藤 徳子, 林 玲緒奈, 糸永 和広 (神歯大 院歯 歯内療法)
3-PG45	象牙質形成および再生過程におけるビタミンD受容体の局在 ○佐藤 幸平 <sup>1</sup> , 柿澤こころ <sup>2</sup> , 建部 廣明 <sup>1</sup> , 細矢 明宏 <sup>1</sup> (北医療大 歯 組織, <sup>2</sup> 北医療大 歯 5年)
3-PG46	自己免疫疾患における歯髄感染過程の病理組織学的解析 IgA腎症モデルマウスにおける解析 ○林 玲緒奈, 石井 信之, 武藤 徳子, 山崎 詩織, 糸永 和広 (神歯大 院歯 歯内療法)
3-PG47	PEEK材を用いて開発された歯科用根管拡大装置がスミア層除去に及ぼす影響 ○候 亜男, 岡村 友玄, 池田千浦子, 富永 和也 (大歯大 歯 口腔病理)
3-PG48	架橋型糖化最終産物 (AGEs) と AGEs 阻害薬アラゲプリウムの相互作用の解析. ○清水 真人, 杉山 敬多, 高島 葵, 岡田 美佐, 三浦 治郎 (阪大 総診)
3-PG49	糖尿病ラットにおける歯髄内血管糖化と阻害法の検討 ○岡田 美佐, 清水 真人, 杉山 敬多, 高島 葵, 三浦 治郎 (阪大 総診)
3-PG50	脱灰したエナメル質に対するブラッシングの影響に関する実験的研究 ○東理 頼亮 <sup>1</sup> , 長谷川 優 <sup>2</sup> (日歯大新潟 病理, <sup>2</sup> 日歯大新潟短大 歯科衛生)
3-PG51	小白歯と大白歯の間に見られる形態形成過程の違い ○ハイデル ヤシン <sup>1,2</sup> , 岩井 治樹 <sup>2</sup> , 倉本恵梨子 <sup>2</sup> , 後藤 哲哉 <sup>2</sup> , 中村 典史 <sup>1</sup> , 山中 淳之 <sup>2</sup> (鹿大 院医歯 顎顔面外科, <sup>2</sup> 鹿大 院医歯 機能形態)
3-PG52	糖化ゼラチンスポンジによるラット臼歯部への直接覆髄法の評価 ○杉山 敬多, 清水 真人, 高島 葵, 岡田 美佐, 三浦 治郎 (阪大 総診)
3-PG53	顕微フーリエ変換赤外分光法を用いたフッ化ジアミン銀塗布による象牙質の性状変化の観察 ○桑田 (楠瀬) 隆生 <sup>1</sup> , 渡辺 新 <sup>2</sup> , 布施 恵 <sup>3</sup> , 岡田 裕之 <sup>2</sup> (日大松戸歯 教養生物, <sup>2</sup> 日大松戸歯 組織, <sup>3</sup> 日大松戸歯 教養化学)
3-PG54	RT-MSPを用いた歯由来 DNA のメチル化率に基づく年齢推定 ○近藤 真啓, 小方 彩乃, 網干 博文 (日大 歯 法医)
3-PG55	授乳中のラットにおけるメラトニン摂取量と骨の形態や骨質との相関 ○三島 弘幸 <sup>1</sup> , 松本 由樹 <sup>2</sup> (鶴大 歯 歯科理工, <sup>2</sup> 香川大 農)
3-PG56	プライマリーシリアを介した下顎頭軟骨老化メカニズムの探索 ○北見 恩美 <sup>1</sup> , 加来 賢 <sup>2</sup> (新潟大 院医歯 歯科薬理, <sup>2</sup> 新潟大 院医歯 生体補綴)
3-PG57	一酸化窒素と活性酸素の下流シグナル分子 8-ニトロ-cGMP による骨代謝調節 ○金子児太郎 <sup>1,2</sup> , 宮本 洋一 <sup>1</sup> , 上條竜太郎 <sup>1</sup> (昭大 歯 口腔生化学, <sup>2</sup> 東京医大 医 口腔外科)
3-PG58	EGR1 は BMP9 による SMAD1/5 活性化を増強して骨芽細胞分化を促進する ○千葉 紀香 <sup>1</sup> , 成 昌典 <sup>2</sup> , 大西 智和 <sup>1</sup> , 松口 徹也 <sup>1</sup> (鹿大 院医歯 口腔生化学, <sup>2</sup> 鹿大 院医歯 顎顔面外科)
3-PG59	ニワトリ胚二次軟骨基質の免疫組織化学的研究 ○柴田 俊一, 高橋 昌己, 渋井 徹, 入江 一元 (北医療大 歯 解剖)
3-PG60	牽引負荷刺激は骨細胞のストレス応答遺伝子を活性化し細胞周期の停止を誘導する ○藤原 恭子 <sup>1,2</sup> , 清水なつ生 <sup>3,4</sup> , 高橋 富久 <sup>1,2</sup> (日大 歯 解剖 1, <sup>2</sup> 日大 歯 総歯研 機能形態, <sup>3</sup> 日大 院歯 応用口腔科, <sup>4</sup> 日大 歯 歯科矯正)
3-PG61	ポリ乳酸バイオアクティブフィルムへのマウス骨芽細胞様細胞の挙動に対する豚コラーゲン, ティラピア魚コラーゲンの固定化の効果 ○布施 恵 <sup>1</sup> , 楠瀬 隆生 <sup>2</sup> , 小方 頼昌 <sup>3</sup> (日大松戸歯 教養 (化学), <sup>2</sup> 日大松戸歯 教養 (生物), <sup>3</sup> 日大松戸歯 歯周)
3-PG62	$\beta$ -glucan によるオートファジーを介した破骨細胞分化抑制機構 ○有吉 渉, 永井-吉岡 香絵, 山崎 亮太 (九歯大 感染分子生物)
3-PG63	シアル酸受容体タンパク質 Siglec-15 中和抗体の破骨細胞と骨芽細胞に対する作用 ○中村美どり <sup>1</sup> , 宇田川信之 <sup>1</sup> , 小出 雅則 <sup>2</sup> , 上原 俊介 <sup>1</sup> , 山下 照仁 <sup>2</sup> , 小林 泰浩 <sup>2</sup> (松歯大 生化学, <sup>2</sup> 松歯大 総歯研 硬組織機能解析)
3-PG64	ナノ粒子を用いたレチノイド局所投与による骨成長の調整 ○内部 健太, 寺山 隆司 (広大 院医 顎顔面解剖)



3-PG65	ハクビシン ( <i>Paguma larvata</i> ) の頭蓋成長にともなう骨性小脳テントの形態形成パターン ○子安 和弘, 池田やよい (愛院大 歯 解剖)
3-PG66	コラゲナーゼ注入による筋腱接合部の再生・形態変化と筋機能への影響 ○山本悠太郎, 渡辺 元次, 高木 貴博, 廣内 英智, 山本 将仁, 松永 智, 阿部 伸一 (東歯大 解剖)
3-PG67	吸啜から咀嚼への転換期におけるリズム性咀嚼筋活動の変化 ○山田 雅治 <sup>1</sup> , 片桐 綾乃 <sup>1</sup> , 増田 裕次 <sup>3</sup> , 豊田 博紀 <sup>1</sup> , 丹羽 均 <sup>2</sup> , 加藤 隆史 <sup>1</sup> (阪大 院歯 口腔生理, <sup>2</sup> 阪大 院歯 麻酔, <sup>3</sup> 松歯大 院歯 顎口腔機能)
3-PG68	ヒトうま味受容体 TAS1R1 遺伝子の転写調節における POU 転写因子の機能解析 ○豊野 孝, 松山 佳永, 片岡 真司, 瀬田 祐司 (九歯大 解剖)
3-PG69	モデルラットを用いた未病における全身機能障害の微小循環解析 ○東 雅啓 <sup>1</sup> , 高橋 聡子 <sup>2</sup> , 高橋 俊介 <sup>3</sup> , 松尾 雅斗 <sup>1</sup> (神歯大 口腔解剖, <sup>2</sup> 神歯大 口腔生理, <sup>3</sup> 神歯大 歯科薬理)
3-PG70	ヒト小唾液腺における神経伝達物質の分布 ○佐藤あゆみ, 矢島 健大, 市川 博之, 佐藤 匡 (東北大 院歯 口腔器官解剖)
3-PG71	食事性亜鉛欠乏性味覚障害モデル動物の塩味刺激による結合腕傍核および視索上核の神経応答解析 ○河野 彰代 <sup>1,2</sup> , 乾 千珠子 <sup>2</sup> , 脇坂 聡 <sup>2,3</sup> (大手前短大 歯科衛生, <sup>2</sup> 阪大 院歯 口腔解剖一, <sup>3</sup> 関西女子短大 歯科衛生)
3-PG72	カリオフィリンを介した IL-1a の核移行メカニズムの解明 ○山本安希子, 和氣 清尊, 角田麻里子, 福井 怜, 浅野 正岳 (日大 歯 病理)
3-PG73	Rab44 タンパク質による炎症応答制御機構 ○門脇 知子 <sup>1</sup> , 山口 優 <sup>2</sup> , 佐藤 啓子 <sup>1</sup> , 筑波 隆幸 <sup>2</sup> (長大 院医歯薬 フロンティア口腔, <sup>2</sup> 長大 院医歯薬 歯科薬理)
3-PG74	<i>P. gingivalis</i> LPS 誘導性糖尿病モデルマウス腎での SGLT2 過剰発現について ○梶原弘一郎 <sup>1</sup> , 沢 禎彦 <sup>2</sup> (福歯大 矯正, <sup>2</sup> 岡大 院医歯薬)
3-PG75	ラットの食塩に対する味神経応答はその溶液の粘度の大きさに依存して抑制される ○前田知馨代 <sup>1</sup> , 中村 文彦 <sup>2</sup> , 安尾 敏明 <sup>2</sup> , 諏訪部 武 <sup>2</sup> , 岩瀬 陽子 <sup>1</sup> , 玄 景華 <sup>1</sup> , 碓 哲崇 <sup>2</sup> (朝日大 歯 口腔病態医療 障害者歯科, <sup>2</sup> 朝日大 歯 口腔機能修復 口腔生理)
3-PG76	口腔領域の嚢胞性疾患におけるアメロジェニンの発現 ○殷 傑, 岡村 友玄, 池田千浦子, 富永 和也 (大歯大 口腔病理)
3-PG77	デスモソーム蛋白 desmoglein 3 欠損がケラチノサイトに及ぼす影響の解析 ○小川 修平 <sup>1</sup> , 大谷 崇仁 <sup>2</sup> , 緒方佳代子 <sup>2</sup> , 稲井哲一朗 <sup>2</sup> (福歯大 冠橋義歯, <sup>2</sup> 福歯大 機能構造)
3-PG78	Artepillin C および Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) による IL-2 産生促進作用の比較 ○高橋 萌 <sup>1</sup> , 神谷 真子 <sup>3</sup> , 池野久美子 <sup>4</sup> , 上野 恭平 <sup>2</sup> , 梅村 直樹 <sup>2</sup> , 高山 英次 <sup>2</sup> , 川木 晴美 <sup>2</sup> , 中村源次郎 <sup>4</sup> , 村松 泰徳 <sup>1</sup> , 近藤 信夫 <sup>2</sup> (朝日大 歯 口外, <sup>2</sup> 朝日大 歯 口腔生化, <sup>3</sup> 朝日大 営 化学, <sup>4</sup> 株式会社 秋田屋本店 研究開発)
3-PG79	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> の酸性環境での発現遺伝子の動態 ○桑原 紀子 <sup>1</sup> , 平塚 浩一 <sup>2</sup> , 齋藤 真規 <sup>1</sup> , 田中 陽子 <sup>3</sup> , 瀧澤 智美 <sup>1</sup> , 小林 良喜 <sup>1</sup> , 泉福 英信 <sup>1</sup> (日大松戸歯 感染免疫, <sup>2</sup> 日大松戸歯 生化・分子生物, <sup>3</sup> 日大松戸歯 障害者歯)
3-PG80	喉頭部の味蕾様構造における陰イオンチャンネル発現 ○徐 嘉鍵, 中富 千尋, 氏原 泉, 小野堅太郎 (九歯大 生理)
3-PG81	小学生児童の味覚検査と嗜好の関連性 ○佐伯 周子 <sup>1</sup> , 井出 良治 <sup>1</sup> , 橋爪 那奈 <sup>1</sup> , 河内 嘉道 <sup>1,2</sup> , 石井 広志 <sup>2</sup> (日歯大 生命歯 生理, <sup>2</sup> 市川市歯科医師会)
3-PG82	ビタミン C 欠乏状態における酸味受容体の mRNA 発現と酸味溶液に対するリッキング応答 ○安尾 敏明, 中村 文彦, 諏訪部 武, 高橋 慎平, 碓 哲崇 (朝日大 歯 口腔機能修復 口腔生理)
3-PG83	エナメル上皮細胞の上皮間葉転換に及ぼす TGF-β アイソフォームの応答性 ○宮川 友里 <sup>1,2</sup> , 唐木田丈夫 <sup>2</sup> , 大熊理紗子 <sup>2</sup> , 山本 竜司 <sup>2</sup> , 小林 冴子 <sup>1</sup> , 朝田 芳信 <sup>1</sup> , 山越 康雄 <sup>2</sup> (鶴大 歯 小児歯, <sup>2</sup> 鶴大 歯 生化)
3-PG84	小胞体ストレスを介した細胞死における細胞質 ATM の関与 ○佛坂 由可 <sup>1</sup> , 佛坂 齊祉 <sup>2</sup> (長大 院医歯薬 口腔腫瘍治療, <sup>2</sup> 長大 院医歯薬 矯正)
3-PG85	神経ペプチド受容体 VIPR2 は PI3K 経路を介してがん細胞遊走を制御する ○浅野 智志, 吾郷由希夫 (広大 院医 細胞分子薬理)
3-PG86	カブサイシンのマウス味覚神経応答に対する影響 ○岩田 周介 <sup>1,2</sup> , 吉田 竜介 <sup>3</sup> , 高井 信吾 <sup>1</sup> , 實松 敬介 <sup>1,2,4</sup> , 重村 憲徳 <sup>1,2</sup> , 二ノ宮裕三 <sup>3,5</sup> (九大 院歯 口腔機能解析, <sup>2</sup> 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, <sup>3</sup> 岡大 院医歯薬 口腔生理, <sup>4</sup> 九大 院歯 OBT 研究セ, <sup>5</sup> モネル化学感覚研)
3-PG87	3 壁性歯周組織欠損部に歯髄細胞の培養上清液を投与した時の効果 ○Montenegro Raudales Jorge Luis, 本田 雅規 (愛院大 歯 口腔解剖)

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

1-PMS1	イペリンがヒト口腔上皮細胞の炎症性メディエーター産生に及ぼす影響の解析 ○藤井亜祐美, 嘉手納公威, 佐藤 朱里, 下山 真弘, 細川 育子, 細川 義隆 (徳大 院医歯薬 再生歯科)
1-PMS2	<i>Porphyromonas gingivalis</i> 線毛は LPS によるヒト単球のインターロイキン-6 産生を相乗的に誘導する ○遠山 学 <sup>1,2</sup> , 多田 浩之 <sup>2</sup> , 沼崎 研人 <sup>2</sup> , 松下 健二 <sup>3</sup> , 菅原 俊二 <sup>2</sup> (1東北大 歯 6年, 2東北大 院歯 口腔分子制御, 3長寿セ 口腔疾患)
1-PMS3	歯周病の病態における酪酸菌の持つ効果の解析 ○中村 麻衣 <sup>1</sup> , 岸川 咲吏 <sup>2</sup> , 永尾 潤一 <sup>2,3</sup> , 田中 芳彦 <sup>2,3</sup> (1福歯大 リサーチスチューデント, 2福歯大 機能生物 感染生物, 3福歯大 口腔医学セ)
1-PMS4	シェーグレン症候群モデルマウスにおける鼻腔組織の病態解析 ○田村 海, 川人 祐樹, 佐藤 真美, 大塚 邦紘, 常松 貴明, 石丸 直澄 (徳大 院医歯薬 口腔分子病態)
1-PMS5	シェーグレン症候群モデルマウスである NFS/sld マウスの変異遺伝子 <i>Mucin19</i> の発現解析と病態との関連性 ○川人 祐樹, 田村 海, 常松 貴明, 佐藤 真美, 大塚 邦紘, 石丸 直澄 (徳大 院医歯薬 口腔分子病態)
1-PMS6	メダカ咽頭歯の形成過程における SOX 遺伝子の関与 ○佐藤 幹也 <sup>1</sup> , 湯本 華帆 <sup>1</sup> , 守田 剛 <sup>2</sup> , 角田 佳折 <sup>2</sup> , 馬場 麻人 <sup>2</sup> (1徳大 歯 歯, 2徳大 院医歯薬 顎顔面形態)
1-PMS7	<i>Porphyromonas gingivalis</i> における <i>mfa1</i> 部位特異的変異導入による線毛形成に及ぼす影響の検討 ○大石 明広, 内記 良一, 岩瀬 智彦, 榮 宏太郎, 長谷川義明 (愛院大 歯 微生物)
1-PMS8	歯周病原細菌の増殖を阻害するヒト口腔常在細菌の探索と解析 ○生田宗一郎 <sup>1</sup> , 永尾 潤一 <sup>2,3</sup> , 田中 芳彦 <sup>2,3</sup> (1福歯大 リサーチスチューデント, 2福歯大 機能生物化学 感染生物, 3福歯大 口腔医学セ)
1-PMS9	歯髄幹細胞培養上清の抗酸化効果による放射線性口腔乾燥症の治療メカニズム ○沖 若奈, 加納 史也, 西原 嵩晃, 橋本 登, 山本 朗仁 (徳大 院医歯薬 組織再生制御)
1-PMS10	<i>Candida albicans</i> 再感染における宿主応答の解析 ○水上 昂 <sup>1</sup> , 豊永 憲司 <sup>2</sup> , 田中 芳彦 <sup>2,3</sup> (1福歯大 リサーチスチューデント, 2福歯大 機能生物 感染生物, 3福歯大 口腔医学セ)
1-PMS11	阻害剤スクリーニングによる多能性制御因子の同定 ○大本 美奈, 寺島 実遥, 三宅 夏穂, 森内 快郁, 邵 文華, 毛利 安宏, 工藤 保誠 (徳大 口腔生命科学)
1-PMS12	口腔癌の進展における Transforming growth factor beta-induced (TGFBI) の役割 ○猿棒 元陽 <sup>1</sup> , 邵 文華 <sup>2</sup> , 山口 裕太 <sup>2</sup> , 毛利 安宏 <sup>2</sup> , 工藤 保誠 <sup>2</sup> (1徳大 歯, 2徳大 院医歯薬 口腔生命)
1-PMS13	分泌型シアル酸認識レクチンとケモカイン MPC-1 を用いた関節リウマチの新規治療法の開発 ○猿山 善章, 森岡 莉彩, 加納 史也, 橋本 登, 山本 朗仁 (徳大 院医歯薬 組織再生制御)

# 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 (L)

歯科基礎医学会学会奨励賞受賞講演 (JR)

教育講演 (ES)

メインシンポジウム (MS1~MS4)

歯科イノベーションロードマップシンポジウム (IRS)

日本学術会議シンポジウム (SCJS)

先端歯学国際教育研究ネットワークシンポジウム (AD)

アップデートシンポジウム (US1~US6)

一般演題 (口演)

一般演題 (ポスター)

---

---

---

## SL1 Society5.0 におけるスーパーコンピューター富岳の医療・創業への貢献

---

松岡 聡

理化学研 計算科学研究センター長

---

我が国が目指すべき未来社会 Society 5.0 においては、IoT により多種かつ莫大なデータが生成・共有され、シミュレーションや人工知能 (AI) による適切な分析や未来予測が行われ、さらにそれがロボットや自動運転車などによって現実社会にアクチュエーションされることにより、過疎や少子化への対応、高齢化社会における健康長寿の高レベルでの実現、さらには社会や産業のカーボンニュートラル化、などの様々な SDGs の社会的課題が克服されることが期待されます。今回はこのような場面で、Society5.0 の中心的な基盤となると目されるスーパーコンピューター富岳の責任者である松岡先生に、富岳と富岳による「ウイルス飛沫感染シミュレーション」や「新型コロナウイルスの治療薬候補同定」または「AI による病気の診断」等について、それらの実行にはどのようなデータや理論が必要だったのかなど、事例を上げながらご講演頂き、それらの理解によって本学会の会員が、Society5.0 に向かってどのような立ち位置、すなわち研究の方向性をとっていけば良いのかを考える貴重な機会としたいと考え、本講演を企画致しました。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### The supercomputer ‘Fugaku’ and its applications to medical and pharmaceutical fields for Society5.0/SDGs

---

Matsuoka S

Director, RIKEN Center for Computational Science

---

Fugaku is the first of the era of the so-called ‘exascale’ machine in which orders of magnitude improvement in performance has been attained compared to the ‘petascale’ supercomputers, serving as a platform of the most difficult societal challenges to satisfy SDGs, or what is called ‘Society 5.0’ in Japan. For this purpose, Fugaku was designed not only to be extremely high-performant, but very general purpose with broad applicability and user base, allowing groundbreaking applications to be utilized, often converging traditional simulations, big data instrumentation and ML/AI, which will be introduced in the talk. In particular, there are various significant scientific strides being made in medical & pharmaceutical fields, in terms of being able to create digital twins of humans at multiple resolutions and being able to conduct what-if analysis of the symptoms versus the physical causes, potentially leading to next-generation prevention and treatments of societally adverse diseases such as the COVID-19.

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

---

---

## SL2-1 がんの近赤外光線免疫療法（光免疫療法）

---

○小林 久隆

米国国立がん研 分子イメージング

臨床におけるがんの三大治療方法は、半世紀以上前から変わらず外科手術、放射線治療、化学療法（抗がん剤）である。これらの三大治療はすべて直接がん細胞を攻撃しまたは取り去って体の中にあるがん細胞を無くすまたは減らしていくことを目的にしている合理的な方法である。ただ、どの治療法も免疫細胞を含む正常な細胞もダメージを受けるため、がん治療による副作用や再発の原因となり患者を苦しめている。一方、現在のがん免疫療法は、免疫細胞ががん細胞を殺しきることによって、がんを治癒させるわけであり、免疫療法自体によっては一つもがん細胞が殺されることはない。がん細胞を減らしながら抗腫瘍免疫を高めることを同時に行うことが理想のがん治療である。そこでこの講演では、我々が開発した分子特異性を重視したがん細胞選択的癌治療「近赤外光線免疫療法（光免疫療法）」について紹介したい。光免疫療法は、抗体を用いた細胞選択性と光化学反応による急速かつ強力な分子変形に基づいて、がん細胞のみを効果的に狙い撃ちして免疫原性細胞死を起こす。また、免疫細胞を含む正常細胞を傷つけることがないため、壊した癌細胞に対する免疫を非常に効率よく誘導することができる。従ってがん細胞の数を減らしながら合理的に免疫力を強化して短期間にごんを根治できる従来のがん治療とは全く異なるコンセプトのがん治療法である。さらに免疫抑制細胞を標的として腫瘍内で壊すことによる免疫増強など、光免疫療法には固有の優れた特長がある。この方法では、一か所を治療することによって転移にも合理的に効果があり、また免疫記憶を誘導することによって再発を抑制する光免疫療法の最終完成形をも可能にできることは動物実験では実証できてきている。最後に光免疫療法の口腔がんにおける臨床の進行状況についても最新情報を紹介したい。

【利益相反】なし

---

## Near infrared photoimmunotherapy of cancer

---

○Kobayashi H

Molecular Imaging Branch, National Cancer Institute, NIH

Near infrared photoimmunotherapy (NIR-PIT) is a new molecularly-targeted cancer photo-therapy based on conjugating a near infrared silica-phthalocyanine dye, IRDye700DX (IR700), to a monoclonal antibody (mAb) targeting cell-surface molecules. NIR-PIT targeting EGFR using the cetuximab-IR700 conjugate is now under global Phase 3 clinical trial in late-stage head and neck squamous cell cancer patients and was approved for the clinical use under the health insurance in Japan in September 2020. When exposed to NIR light, the conjugate induces a highly-selective necrotic/immunogenic cell death (ICD) only in target-positive, mAb-IR700-bound cancer cells. ICD induced by NIR-PIT promoted maturation of immature dendritic cells (DCs) to matured DCs that primed multi-clonal cytotoxic CD8+ T-cells to react with cancer-related antigens released from crashed cancer cells. When combined with immunotherapies activating CD8+ T-cells, large proportion of cancers become complete remission. In this talk, first I focus on the basis of NIR-PIT, then successful combination of cancer-targeting NIR-PIT with various immune-activation therapies that cured primary and metastatic tumors, and yielded vaccination effects against treated cancer cells that suppressed recurrence. This will be the ultimate form of NIR-PIT. Additionally, current progresses of clinical and pre-clinical NIR-PIT will be introduced especially for oral cancers.

**Conflict of Interest:** Nothing to be declared



---

## SL2-2 次世代プロテオミクスが拓く医学生物学の新地平：100 年来のがん代謝の謎を解く

---

○中山 敬一

九大 生体防御医学研 分子医科

多くの研究者はタンパク質の性質の解明には力を注いでいるものの、「量」については驚くほど大雑把である。しかし精密なタンパク質定量は数理学の導入にとって必須である。われわれは全てのタンパク質を絶対定量するため、ヒトの全リコンビナントタンパク質 25,000 種を試験管内で合成し、この情報を基に高速ターゲットプロテオミクスで短時間に多数のタンパク質の絶対定量を可能にする iMPAQT 法を発明した。

この iMPAQT 法を用いて多くのタンパク質の絶対定量を行った。特に正常細胞とがん細胞について全貌解明とその比較を行い、その代謝状態の変化をもたらすキー酵素を探索した。この結果、がんにおける代謝シフトは、炭素ソース利用をエネルギー産生から高分子化合物合成へリモデリングする大規模な適応戦略であることが明らかとなり、約 100 年前に発見されたワールブルグ効果 (=好氣的解糖シフト) は、その一部を見ているに過ぎないことが判明した。さらに主要な窒素源であるグルタミン代謝も、がんでは大きくシフトしていることを発見した。われわれはこれを「第二のワールブルグ効果」と呼び、窒素代謝シフトを生じさせるキー酵素 PPAT を同定することに成功した。

種々のがん患者 11,000 人のメタ解析によって、PPAT の発現量はほとんどのがんにおいて死亡リスクと強い相関があることが明らかとなった。特に小細胞肺がんではその傾向が顕著であった。実際に小細胞肺がん株で PPAT をノックダウンすると強い増殖阻害が起こるが、正常細胞ではあまり増殖に影響はなかった。臨床的に小細胞肺がんはほとんど有効な治療法がなく生命予後は著しく悪いが、PPAT の阻害薬が開発されれば、がん特異的に治療効果を発揮することが期待される。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Next-generation proteomics opens new horizons in medical biology: Unraveling a century-old enigma of cancer metabolism

---

○Nakayama K

Med Inst Bioreg, Kyushu Univ

Although glucose metabolism is remodeled in cancer (Warburg effect), the global pattern of cancer-specific metabolic changes has remained unclear. Comprehensive measurement of metabolic enzymes by the next-generation proteomics termed “iMPAQT” revealed that the metabolic flux of not only carbon but also nitrogen is altered during malignant progression of cancer. The fate of glutamine, a major source of nitrogen, is shifted from glutaminolysis to nucleotide biosynthesis, with this shift being controlled predominantly by GLS1 and PPAT in the respective pathways. The PPAT/GLS1 ratio is increased in many types of cancer, and interventions to reduce this ratio suppressed tumor growth. A meta-analysis of ~ 11,000 cancer patients revealed that enzymes of the nucleotide biosynthesis pathway are the strongest indicators of cancer malignancy among all metabolic enzymes. This trend is most pronounced in neuroendocrine tumors including small cell lung cancer (SCLC). PPAT depletion suppresses the growth of SCLC lines. Our results suggest that a shift in glutamine fate is required for malignant progression of cancer and may prove to be as important as the carbon shift (Warburg effect). This nitrogen shift might thus be referred to as a “second” Warburg effect.

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

---

---

## L1 睡眠時ブラキシズムの病態生理機構の解明

---

○加藤 隆史

阪大 院歯 口腔生理

睡眠時ブラキシズムは、睡眠中に歯ぎしり音を伴うリズム性咀嚼筋活動が過剰に発生する睡眠関連疾患である。発生率は小児で20%、成人で10%と高く、口腔機能リハビリテーションの障害要因であるため、歯科医療における関心は高い。しかし、睡眠時ブラキシズムの原因や発生機構は未解明のままである。その原因として、ヒト及び動物における睡眠時ブラキシズムの発生機構を解明する生理学的な研究は国内外で極めて少なく、臨床生理学と基礎生理学の知見が translation される研究分野が確立されていないことが挙げられる。

そこで、ヒトにおいて、睡眠時ブラキシズムの病態生理機構を明らかにするため、小児から中高年被験者に対して脳波、自律神経活動、咀嚼筋活動を終夜記録して、発生機構を解明する生理データベースを構築した。そして、リズム性咀嚼筋活動が、睡眠周期変動や覚醒応答の発現に関連して発生することや、睡眠時ブラキシズム患者では、全ての睡眠段階でリズム性咀嚼筋活動を生じさせる機構が亢進しているが、咀嚼筋トーンズや脳波・自律神経活動が正常範囲にある可能性を見出した。一方、自然睡眠中の動物で咀嚼筋活動を記録解析する実験系の構築を試みた結果、実験動物の睡眠中においても、ヒト睡眠時ブラキシズムで生じるリズム性咀嚼筋活動と類似した生理学的特性を示す咀嚼筋活動が生じることがわかった。また、大脳皮質下行路の電気刺激によって顎運動リズムを睡眠中に誘発することで、ノンレム睡眠中の顎運動リズム発生器の興奮性が低下することを明らかにした。さらに、麻酔を用いた脳活動の変動に応じてリズム性顎運動が発生する実験系や、咀嚼機能と睡眠時咀嚼筋活動の発達を観察できる実験系の構築も試みている。今後、ヒトの実験系で基礎的な病態生理学的知見を基盤として、様々な動物実験系を用いながら睡眠時ブラキシズムの病態生理機構を明らかにしたい。

**【利益相反】** 本発表にあたり利益相反はありません。

---

## Exploring the pathophysiology of sleep bruxism

---

○Kato T

Dept Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

Sleep bruxism (SB) is a common sleep disorder, affecting approximately 20% in children and 10% of adults. However, pathophysiology of SB remains to be clarified since very few physiological studies have been done in humans and animals. Polysomnographic studies in humans showed that rhythmic masticatory muscle activity (RMMA) occurred more frequently in patients with SB than in normal subjects. A majority of RMMA occurred during NREM sleep in association with transient arousals and cyclic sleep processes under normal sleep regulation. To further understand the neurophysiological mechanisms of SB, the jaw motor activities were investigated in the naturally sleeping animals. During sleep, animals exhibited a variety of masticatory muscle contractions. Among them, the RMMA episodes were found to occur during NREM sleep in association with cortical and cardiac activations as found in humans. In addition, experimental RMMA induced by the electrical stimulation of cerebral cortex or its descending tract could be used for assessing the excitability in masticatory central pattern generator (CPG) during natural sleep and wakefulness. The above findings suggest the significant roles of sleep regulatory system on the genesis of RMMA, and thereby warrant further human and animal studies for clarifying the pathophysiological mechanism of SB.

**Conflict of Interest:** There is no conflict interest to be declared.

---

## JR-1 高転移性癌細胞由来の細胞外小胞に搭載された MMP3 による *Ctgf/Ccn2* 発現調節機能と癌転移促進

○奥舎 有加<sup>1,2</sup>, 江口 傑徳<sup>1,3</sup>, Manh T. Tran<sup>1</sup>, 十川 千春<sup>1</sup>, 吉田 賀弥<sup>4</sup>, 板垣 まみ<sup>1,5</sup>, Eman A. Taha<sup>1,6,7</sup>, 小野 喜章<sup>8</sup>, 青山絵理子<sup>3</sup>, 岡村 裕彦<sup>9</sup>, 小崎 健一<sup>1</sup>, Stuart K, Calderwood<sup>2</sup>, 滝川 正春<sup>3</sup>, 岡元 邦彰<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 歯科薬理, <sup>2</sup>ハーバード大 院医 BIDMC, <sup>3</sup>岡大 歯 先端領域研究センター, <sup>4</sup>徳大 院医歯薬 口腔保健教育, <sup>5</sup>岡大 歯, <sup>6</sup>岡大 院自然科学 生命医用工, <sup>7</sup>アインシャムス大 細胞生物, <sup>8</sup>岡大病院 口腔顎顔面外科, <sup>9</sup>岡大 院医歯薬 口腔形態

【背景】マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) は、ヒトにおいて 20 種類以上のメンバーで構成されるタンパク質分解酵素ファミリーである。我々は、高転移性癌細胞において MMP3 が高発現および核内に局在化し、MMP3 ノックダウンによって癌細胞の遊走・浸潤・腫瘍形成・転移が抑制されること (Okusha Y *et al.*, 2018, *J Cell Biochem*)、また、核内移行した MMP3 が *Ctgf/Ccn2* 遺伝子の転写を調節することを報告した (Eguchi T *et al.*, 2008, *Mol Cell Biol*)。近年、エクソソーム等の細胞外小胞 (EVs) を介した細胞間分子輸送・伝達が注目され、MMPs が EVs に含有される例も報告されている。そこで本研究では、ゲノム編集技術を用いて MMP3 欠失癌細胞の樹立および MMP3 欠失 EVs の作製を行い、MMP3 の細胞内・核内移行メカニズムおよび遺伝子発現制御について解明した。【方法・結果】マウス大腸癌細胞株 Colon26 とその高転移性亜株 LuM1 のトランスクリプトーム解析を行い、LuM1 における *Mmp3* および *Ctgf/Ccn2 mRNA* 高発現を明らかにした。CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術により gRNA および Cas9 タンパクを LuM1 細胞へトランスフェクションし、サンダー法シーケンシングで DNA の欠失・挿入部位を確認し、MMP3 ノックアウト LuM1 細胞を樹立した。MMP3 ノックアウト LuM1 細胞は、コントロール LuM1 細胞と比較して、細胞遊走能・マトリゲル浸潤能および腫瘍形成能が有意に低下した。MMP3 ノックアウト LuM1 細胞における *Ctgf/Ccn2 mRNA* レベルは、コントロール LuM1 と比較して有意に低かったが、CTGF/CCN2 タンパク質レベルは上昇傾向を示した。さらに、LuM1 由来の EVs に含まれる MMP3 が受け入れ側の癌細胞内に取り込まれ、腫瘍形成能を促進することを、細胞免疫染色および動物実験等により明らかにした。【結論】転移性癌細胞において高発現する MMP3 は、EVs および癌細胞の核内に存在し、CTGF/CCN2 の発現を調節することで癌の浸潤・転移に寄与する可能性が示唆された。

【利益相反】ありません。

## Extracellular vesicles enriched with moonlighting metalloproteinase are highly transmissive, Pro-tumorigenic, and trans-activates cellular communication network factor (CCN2/CTGF) : CRISPR against cancer

○Okusha Y<sup>1,2</sup>, Eguchi T<sup>1,3</sup>, Tran MT<sup>1</sup>, Sogawa C<sup>1</sup>, Yoshida K<sup>4</sup>, Itagaki M<sup>1,5</sup>, Taha EA<sup>1,6,7</sup>, Ono K<sup>8</sup>, Aoyama E<sup>3</sup>, Okamura H<sup>9</sup>, KozakiKI<sup>1</sup>, Calderwood SK<sup>2</sup>, Takigawa M<sup>3</sup> and Okamoto K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup>Dept Rad Oncol, Beth Israel Deaconess Med Cent, Harvard Med Sch, <sup>3</sup>Adv Res Cent for Oral and Craniofac Sci, Okayama Univ Dent Sch, <sup>4</sup>Dept Oral Healthcare Edu, Inst Biomed Sci, Tokushima Univ Grad Sch, <sup>5</sup>Res program for undergraduate students, Okayama Univ Dent Sch, <sup>6</sup>Dept Med Bioengin, Okayama Univ Grad Sch Nat Sci Tech, <sup>7</sup>Dept Biochem, Ain Shams Univ Fac Sci, <sup>8</sup>Dept Oral and Maxillofac Surgery, Okayama Univ Hosp, <sup>9</sup>Dept Oral Morphol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

Matrix metalloproteinase 3 (MMP3) plays multiple roles in extracellular proteolysis as well as intracellular transcription. Indeed, connective tissue growth factor (CTGF, aka cellular communication network factor 2 (CCN2)) is transcriptionally induced as well as cleaved by MMP3. We here investigated the roles of MMP3-rich extracellular vesicles (EVs) in tumor progression, molecular transmission, and gene regulation. EVs derived from a rapidly metastatic cancer cell line (LuM1) were enriched in MMP3 and a C-terminal half fragment of CCN2/CTGF. MMP3-rich, LuM1-derived EVs were disseminated to multiple organs through body fluid and were pro-tumorigenic in an allograft mouse model, which prompted us to define LuM1-EVs as oncosomes in the present study. Oncosome-derived MMP3 was transferred into recipient cell nuclei and thereby trans-activated the *CCN2/CTGF* promoter, and induced *CCN2/CTGF* production in vitro. TRENDIC and other cis-elements in the *CCN2/CTGF* promoter were essential for the oncosomal responsivity.

The CRISPR/Cas9-mediated knockout of MMP3 showed significant anti-tumor effects such as the inhibition of migration and invasion of tumor cells, and a reduction in *CCN2/CTGF* promoter activity and fragmentations in vitro. These data newly demonstrate that oncogenic EVs-derived MMP is a transmissive trans-activator for the cellular communication network gene and promotes tumorigenesis at distant sites.

**Conflict of Interest:** no



---

## JR-2 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

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複数の癌腫の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。

本発表では、“硬さ”に着目した「腫瘍実質-間質連関」に関する、私共の最近の知見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。

---

## The YAP-PIEZO1 axis promotes cell proliferation of oral squamous cell carcinoma

---

○Hasegawa K

Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

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.

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

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

---

---

### JR-3 ジルコニアとアパタイトのナノレベル直接結合が示すオッセオインテグレーション

---

○齊藤 まり, 小沼 一雄, 山本 竜司, 山越 康雄

鶴大 歯 分子生化

我々は以前、チタンより化学的に安定なセリア系ジルコニア・アルミナ複合体 (Ce-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> : Ce-TZP) が、その表面にカルシウム塩化合物を析出させることを見出し、新規歯科インプラント材として有望であると報告した。本研究では、Ce-TZP とカルシウム塩化合物の界面ナノ構造を詳細に調べたので報告する。

**目的**：Ce-TZP—骨類似ハイドロキシアパタイト (HAP) の接合界面構造をナノレベルで解明し、Ce-TZP が優れたオッセオインテグレーション能を示す新規歯科インプラント材であることを証明する。

**実験手法**：骨芽細胞様細胞により Ce-TZP 基板表面に析出したカルシウム塩化合物を X 線/電子線回折測定 (XRD/SAED) で同定し、基板と析出物の接合界面構造及び析出物の化学組成を、透過電子顕微鏡 (TEM) 観察とエネルギー分散型 X 線分光分析 (EDS) で決定した。

**結果と考察**：XRD/SAED パターンの解析と EDS 分析から、Ce-TZP 表面に析出したカルシウム塩化合物が HAP 結晶単相であり、その化学組成は骨 HAP に類似することが判明した。結晶群の平均 Ca/P モル比は 1.40 であり、新生骨に相当する。また、TEM による界面構造観察から、正方晶二酸化ジルコニウム結晶 (101) 面と HAP 結晶 (001) 面が、結晶格子レベルで直接結合していることが判明した。Ce-TZP を歯科インプラント材として用いるにあたり、インプラントフィクスチャー周囲への骨 HAP の析出は必須条件である。上記の結果は、Ce-TZP が生体内において骨 HAP と優れたオッセオインテグレーションを示す可能性を示唆する。更に、事前のジルコニア表面の化学処理なしで Ce-TZP と HAP が直接結合したことは、ジルコニアが生体活性材料であることを意味する。

**結論**：Ce-TZP と骨 HAP 結晶はナノレベルで直接結合するオッセオインテグレーションを示す。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Osseointegration revealed by nano-scale direct bonding between zirconia and apatite

---

○Saito M M, Onuma K, Yamamoto R, Yamakoshi Y

Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

Ceria-stabilized zirconia/aluminum oxide composite (Ce-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> : Ce-TZP), which is chemically more stable than titanium, is a promising dental implant material because calcium salts precipitate on it. Here we report an interfacial nano-structure between Ce-TZP and calcium salts.

**Objective** : Nano-scale investigation of the interfacial structure between Ce-TZP and bone-like hydroxyapatite (HAP) aims to show that Ce-TZP is a new dental implant material with excellent osseointegration.

**Experimental** : Osteoblastic cell-precipitated calcium salts on the Ce-TZP are identified using X-ray/electron-beam diffractions (XRD/SAED). The interfacial structure between Ce-TZP and precipitates and the chemical composition of precipitate are investigated using transmission electron microscopy (TEM) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS).

**Results and discussion** : The calcium salts were single-phase HAP crystals with a similar composition to that of bone HAP (Ca/P molar ratio ~ 1.40). TEM observation of the interface revealed that tetragonal zirconium dioxide (101) face directly bonded to HAP (001) face at a lattice scale. Precipitation of bone HAP around the implant fixture is an essential for using Ce-TZP as a dental implant. Our results suggest that Ce-TZP exhibits excellent osseointegration with bone HAP in vivo, therefore, zirconia is a bioactive material.

**Conclusion** : Ce-TZP directly bonds to bone-like HAP at the nano-scale and exhibits osseointegration.

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

---

---

## ES-1 若手研究者のための英語論文アブストラクトとカバーレターの書き方・転載許諾について (協賛:エルゼビア・ジャパン)

---

○大島 勇人<sup>1,2</sup>

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

---

研究はその成果としての論文や本の出版を伴う。言い換えれば、研究者は論文や本の出版を通して社会に研究成果を還元する義務を負っている。したがって、論文執筆作業は研究者にとって極めて重要な社会的な活動であると言える。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。編集者が論文の質を評価する際や読者が読むべき論文を選定する際にアブストラクトを元に論文の価値が判断されることから、アブストラクトは論文の中でも重要度が高い。アブストラクト執筆にあたり、各セクション(導入部、今回の研究、主な結果と知見)で動詞を活かして各部を「正しく、明確、簡潔に」書くことが、読みやすく、情報が早く伝わるアブストラクトを作成するコツである。導入部では主題の導入と研究限界・問題を、今回の研究では自分の研究で何を行ったかを、主な結果と知見では自分の研究で何がわかったか、何を可能にするかを述べる。総説論文の場合は過去の研究成果を引用することから、論文データの共有は、研究の重要な部分であり、「責任のある方法」で共有することが求められる。

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、英語で科学的な重要性をつかみ易いアブストラクトを効率的に作成するコツを伝えたい。さらに、カバーレターの書き方にも言及したい。「責任のある共有」とは、何をどこで共有してよいかを知っていることであり、これはすべての論文で同じではない。転載許諾の取得方法についても触れたい。

(参考文献) ジャン・プレゲンス: 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」, 富田洋介「効率的なアブストラクトとカバーレターの書き方」等

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## TIPS to make abstract and cover letter using the effective English writing and permission to share an article (in cooperation with Elsevier Japan)

---

○Ohshima H<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup>Vice 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. The abstract is one of the most important parts of a paper, since the value of a paper is judged based on the abstract when editors evaluate the quality of a paper and when readers select a paper to read. The key to writing an abstract is to use verbs in each section (introduction, current study, and main results and findings) and to write each section “correctly, clearly, and concisely.” Since review articles cite past research results, sharing data from the article is an important part of the research and should be shared in a “responsible manner”. In this presentation, I outline the basics of academic writing for young researchers and give tips on how to efficiently prepare an abstract in English as well as a cover letter. I also mention responsible sharing that means knowing what you may share and where, which is not the same for every publication.

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

---

---

## MS1-1 腱と歯根膜におけるメカノ刺激

---

○浅原 弘嗣<sup>1,2</sup><sup>1</sup>医科歯科大 医 システム発生・再生医学, <sup>2</sup>スクリプス研 分子医学

日本が高齢社会に突入するにあたり、加齢とともに激増する骨粗鬆症、変形性関節症、サルコペニア腱・靭帯は身体の各組織を繋ぐロープのようなもので、この組織が全身の動きを支え、力を伝えることで、“動く”ことが可能になる。その発生・再生のメカニズムはまだ不明の点が多く、腱・靭帯の損傷や疾病の完全かつ早期の治癒は未だ困難である。私たちは筋・腱・骨格・関節の形態形成と恒常性を理解するため、転写因子の発現データベース EMBRYYS を作成、腱・靭帯の再生の要となる遺伝子 Mohawk (Mkx) を同定し、腱におけるマスター転写因子としての重要な機能を明らかにしてきた。さらに詳細な生理学的、分子生物学的および医学的な研究のため遺伝子編集技術である CRISPR/Cas9 システムによる Mkx ラットノックアウトラットを作製したところ、全身の腱が脆弱になっていることがわかった。さらに、ノックアウトラットをさらに詳細に解析すると、出生後まもなくアキレス腱が骨化することが明らかになった。このメカニズムとして、腱細胞に対する機械的な伸展刺激（メカノ刺激）が、Mkx という遺伝子スイッチを押すことで、腱・靭帯を守り、骨化を妨げることが示唆された。さらに、このノックアウトラットから得られた十分量の腱細胞を用い、クロマチン免疫沈降と次世代シーケンサーを組み合わせた研究手法によって、腱を再生し維持する遺伝子のプログラムを詳細に明らかにした。以上の我々の知見に加え、歯根膜における Mkx の最新の知見も含めて、力学的刺激（メカノ刺激）の分子メカニズムや腱の再生医療における新しい情報を概説する。

【利益相反】無し

---

## Mechano-stimulation in tendons and periodontal ligament

---

○Asahara H<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Dept Systems BioMedicine, Tokyo Med Dent Univ, <sup>2</sup>Dept Mol Med, Scripps Res

As Japan enters an aging society, osteoporosis, osteoarthritis, and sarcopenia, which increase dramatically with age, tendons and ligaments are like ropes connecting various body tissues. Their development and regeneration mechanisms are still largely unknown, and complete and early healing of tendon and ligament injuries and diseases is still difficult. To understand the morphogenesis and homeostasis of muscle, tendon, skeleton, and joints, we have created a transcription factor expression database, EMBRYYS, and identified Mohawk (Mkx), an essential gene for tendon and ligament regeneration, and its critical function as a master transcription factor in tendons. For further detailed physiological, molecular biological, and medical studies, we generated Mkx rat knockout rats and found ossification of Achilles tendons shortly after birth. As a mechanism, we found that mechanical stimulation protects tendons and ligaments and prevents ossification via Mk. Furthermore, using tendon cells obtained from these knockout rats, we combined chromatin immunoprecipitation and a next-generation sequencing approach to reveal the genetic program that regenerates and maintains tendons. In addition to our findings described above, we will include the latest findings of Mkx in the periodontal ligament and outline new information in the molecular mechanisms of mechanical stimulation and regenerative medicine of tendons.

**Conflict of Interest:** None



---

## MS1-2 毛包幹細胞の発生起源

---

○藤原 裕展

理化学研 生命機能科学研究セ 細胞外環境研究

---

組織幹細胞は、組織の恒常性や再生に不可欠な細胞群である。組織幹細胞は、胚性前駆細胞の集団から、器官特異的な形態形成の過程を経て生み出されるが、その発生起源や誘導メカニズムは、多くの器官で未だ不明である。我々は、マウス毛包発生の3次元ライブイメージングと経時的な1細胞トランスクリプトミクスを組み合わせることで、毛包を構成する細胞一つひとつの動態、細胞系譜、遺伝子発現変化を網羅した毛包発生の「四次元アトラス」を作成した。その結果、毛包のもとになる毛包原基（プラコード）の基底層には、異なる特徴と運命をもった細胞が同心円状に並び、そのプレパターンが陥入して発展することで、筒状の細胞区画が連なった毛包構造が形成されることがわかった。我々は、伸縮式の望遠鏡が伸びるように発生するこの形態形成様式を「テレスコープモデル」と名づけた。さらに、毛包幹細胞は、プラコード基底層の「同心円最外リング領域」に由来することを突き止めた。これは、従来幹細胞の起源とされていたプラコードの「基底上層細胞」とは異なる細胞群であった。また、従来研究では、幹細胞は基底細胞の非対称分裂によって誘導されるとされていたが、我々は、幹細胞が細胞分裂様式にかかわらず、プラコード内の位置異存的に誘導されることを明らかにした。歯を含む多くの体表器官は、毛包と同じようにプラコードから発生する。よって、テレスコープモデルは、さまざまな生物種の体表器官に共通する器官発生/幹細胞誘導原理となる可能性がある。

**【利益相反】** なし

---

## Developmental origin of hair follicle stem cells

---

○Fujiwara H

RIKEN Cent for Biosystems Dynamics Res (BDR)

---

Tissue stem cells are generated from an embryonic progenitor population through organ-specific morphogenetic events. Although tissue stem cells are central to organ homeostasis and regeneration, it remains unclear how they are induced during development, mainly owing to the lack of markers that exclusively label prospective stem cells. Here, by combining marker-independent long-term 3D live imaging and single-cell transcriptomics, we captured cellular dynamics, cell lineages, and transcriptome changes in the entire epithelium of developing mouse hair follicles. We found that different epithelial lineage precursors were aligned in a 2D concentric manner in the basal layer of the hair placode. Each concentric ring zone acquired unique transcriptomes and telescoped out to form longitudinally aligned 3D cylindrical compartments. Prospective bulge stem cells were derived from the peripheral ring zone of the placode, irrespective of cell division orientation. We also identified 13 gene clusters in which their ensemble expression dynamics drew the entire transcriptional landscape of epithelial lineage diversification, coinciding with cell lineage data. Combining these findings with insect appendage development, we provide a generalized model termed the “telescope model” wherein 2D concentric zones in the placode telescope out to form 3D longitudinally aligned cylindrical compartments.

**Conflict of Interest:** none

---



---

### MS1-3 硬組織形成を司る幹細胞の in vivo 解析

---

○溝口 利英

東歯大 口腔科学研究セ

遺伝子情報改変技術の進歩は、細胞の動態および多細胞連関を生体内で理解することを可能にした。すなわち、マウスの生体内で特定の細胞種を標識または枯渇する技術を用いて、組織環境における細胞亜集団の役割を解明する取り組みがなされている。現在、幅広い研究分野でこの実験技術が応用されているが、我々は骨や歯といった硬組織の維持を司る“幹細胞”を対象とした研究に活用してきた。

骨組織の内部に満たされた骨髄には骨格幹細胞が存在し、骨芽細胞の供給源として生涯にわたり機能することが古くから示されてきたが、その性状については十分な理解は得られていなかった。我々は、遺伝子改変マウスを用いた細胞系譜解析により、レプチン受容体(LepR)を発現する細胞が骨格幹細胞として機能することを明らかにした。興味深いことに、歯科領域においては、LepR 陽性細胞が歯根膜に存在することも分かってきている。

また、歯の内部に位置する歯髄にも硬組織を維持する幹細胞が存在する。これら歯髄幹細胞は、象牙質の修復に寄与することが知られているが、その一連の修復誘導メカニズムは良くわかっていない。我々は、歯の硬組織損傷にともない認められる象牙芽細胞死が、象牙質の修復を誘導する引き金になることを、遺伝子改変マウスを用いた象牙芽細胞枯渇実験系により明らかにしている。

本講演では、遺伝子情報改変技術を活用した新規の実験ツールにより、ここ十年で飛躍的に理解が深まった硬組織の幹細胞にフォーカスを当て、我々の知見を中心にご紹介したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反が無いことを宣言する。

---

### In vivo analysis of stem cells responsible for hard tissue formation

---

○Mizoguchi T

Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll

Experimental technologies allow the understanding of cellular dynamics and interactions of various cell types in vivo. It is now possible to label or deplete specific cells in living mice and understand their roles in the tissue environment. Currently, this technique is being applied in a wide range of research fields, and we have used it to study “hard tissue stem cells”, which are responsible for the maintenance of hard tissues such as bones and teeth.

It has long been believed that bone marrow tissue contains skeletal stem cells (SSCs), which are a source of osteoblasts throughout their lifetime. We have identified leptin receptor (LepR)<sup>+</sup> cells as SSCs using mouse genetic lineage tracing analysis. Interestingly, we recently found that LepR<sup>+</sup> cells are also observed as a subpopulation in the periodontal ligament.

Similarly, dental pulp tissue contains hard tissue stem cells, which contribute to reparative dentin formation. We recently demonstrated that odontoblastic cell death triggers reparative dentin formation using a model of odontoblast depletion in genetically modified mice.

In this talk, I will introduce our recent findings on hard tissue stem cells that have been dramatically better understood by powerful experimental tools in the past decade.

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

---

---

## MS2-1 口腔に見出されるウイルスの存在意義 —細菌-ウイルス相互作用—

---

○神尾 宜昌, 今井 健一

日大 歯 感染症免疫

COVID-19 パンデミックは、私たちの社会生活を激変させました。改めて人類は、ウイルス感染の脅威に直面させられています。一方、SARS-CoV-2 が口腔上皮細胞に感染することや唾液中のウイルスが感染性を有することから、“ウイルス感染の場”としての口腔が、改めて注目されています。

口腔の微生物研究は、細菌を対象としたものがこれまでの中心でした。しかし、SARS-CoV-2 以外にも口腔がヘルペスウイルスや HIV など、多くのウイルスの感染・潜伏の場となっており、一部の口腔細菌がそれらの伝播や再活性化を促進することから、口腔における細菌とウイルスとの共感染を検討する必要性が生じています。また、口腔のウイルスが免疫状態に関連して全身に病変をもたらすことも周知の事実です。したがって、口腔のみを対象とした、または単一の微生物のみに着目した従来の研究では、感染症の全体像を描き切れないのではと思われます。

私たちは、“宿主-寄生体相互作用”に加え、“細菌-ウイルス相互作用”という視点から、主に口腔細菌がインフルエンザ、HIV、ヘルペスウイルス感染症および COVID-19 の進展に影響を及ぼしている可能性を報告してきました。一方これらのウイルスの増殖は、宿主に免疫低下を招く結果、細菌の増殖が促進されるという“細菌とウイルスとによる負のスパイラル”により、感染症は重症化し治療もさらに困難にしている可能性があります。そこで、病原性発現における細菌・ウイルス間、及び微生物と宿主との多彩なクロストーク、すなわち“細菌-ウイルス-宿主相互作用”の解明が、感染症に対する新しい理解と新規の治療や予防法の開発につながると考えます。

このような観点から本講演では、口腔細菌がウイルス感染に与える影響を、我々の研究成果を中心に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。

---

## Mechanisms for onset and exacerbation of infectious diseases imputable to “oral bacteria-virus-host interactions”

---

○Kamio N, Imai K

Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent

The outbreak of the COVID-2019 caused by a novel coronavirus has forced humans to change social lifestyles drastically. Furthermore, measures against infections caused by resident bacteria in the oral cavity, such as aspiration pneumonia, as well as opportunistic/nosocomial infections are urgently required in Japan, where the population is aging. Infectious diseases are caused by bacteria or viruses that enter and proliferate within the body. Some bacteria and viruses are capable of infecting hosts persistently for the rest of their lives and manifesting as symptoms when the hosts' immunity weakens. In addition to microorganism-host interactions, intricately meshed bacteria-virus interactions are involved. Negative chain reactions between bacteria and viruses have increasingly been shown to play an important role in the onset of periodontal diseases that were previously attributed solely to bacterial infections. It is difficult to understand the whole picture of infectious diseases through conventional studies focusing solely on the oral cavity or a single microorganism.

We believe that elucidation of diverse microorganism-microorganism and microorganism-host crosstalk in pathogenicity, i.e., “bacteria-virus-host interactions.” will open a path to a new understanding of infectious diseases and development of new therapeutic and prophylactic means.

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

---

---

## MS2-2 運び屋を標的にした蚊媒介性感染症の制御

---

○嘉糠 洋陸

慈恵医大 熱帯医学

マラリアという病気は、蚊によって伝わることは誰でも知っている。それは時によって“吸血時の物理的な接触によって病原体がうつる”と誤解されていることが多い。しかし実際には、マラリア原虫などの病原体は、それを運ぶ節足動物の体内における固有のライフサイクルを持っており、その体内での増殖・分化の過程を経て、次の宿主へと媒介される。興味深いことに、節足動物自身は病気になることはなく、病原体を運搬するカーゴとしてのみ機能している。この節足動物を介した病原体のライフサイクルは、遙か昔から保存されてきたものであり、その媒体である節足動物自身も多様な生命現象の宝庫である。

しかし同時に、西ナイル熱・日本脳炎・フィラリア・日本紅斑熱、ライム病等、節足動物が媒介する感染症（ベクター感染症）は、依然として世界で猛威を振るっている。2012年から2014年に掛けて立て続けに明らかになった、マダニ媒介性 SFTS（重症熱性血小板減少症候群）ウイルスおよびヤブカ媒介性のデングウイルスの本邦における存在は、国民がベクター感染症とその媒介節足動物に強い関心を寄せる転機となった。

我々は、ハマダラカ、ヤブカ、マダニ、ノミ、サシガメ、ヒロズキンバエ、甲虫などを研究対象に、病原体-媒介節足動物間相互作用から、病原体検出技術の応用開発にいたるまで、幅広く研究を進めている。今回の講演では、これらのオーセンティック生物を軸に据えた、我々の最新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。

---

## Boosting new arms to tackle pathogen-transmitting mosquito

---

○ Kanuka H

Dept Trop Med, Jikei Univ Sch Med

A variety of arthropods carry and transmit infectious pathogens to other living organisms. The arthropod that transmits a disease is known as a vector, and the disease is referred to as a vector-borne disease. These hematophagous arthropods form a major group of disease vectors with mosquitoes, flies, sand flies, lice, fleas, ticks, and mites transmitting many diseases such as malaria and dengue filariasis, Chagas disease, and leishmaniasis. Understanding the molecular mechanisms of the responses of disease-transmitting vectors against pathogens is of great importance for current efforts to develop novel strategies for controlling vector-borne diseases. Completing the genome sequences of significant vector species such as *Anopheles gambiae* and *Aedes aegypti*, together with the development of transgenesis in those species and the extension of RNAi and gene-editing techniques to vectors, has allowed comparative and functional genomic approaches of the vector and pathogen interaction. In this talk, a highly complex interplay between pathogen and vector, which our recent findings have unveiled, will be discussed in addition to its implication to vector competency to mediate pathogen transmission.

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

---

---

## MS2-3 ウイルスとの共生・レトロウイルスによる哺乳類の進化

---

○宮沢 孝幸

京大 医生物学研 ウイルス共進化

ウイルスの中でレトロウイルスは宿主がもともと持っている「転移因子 (TE)」の発展系とも考えられ、ゲノムの複雑化と生物の進化と密接に関係している。レトロウイルスは複製の過程でウイルス RNA が DNA に変換され、細胞のゲノム DNA に組みこまれる。この状態のウイルス由来 DNA をプロウイルスと呼ぶ。プロウイルスが組み込まれた生殖細胞由来の配偶子が受精し、その受精卵から個体が発生すると、すべての体細胞と生殖細胞のゲノムにそのレトロウイルス由来の配列が含まれることになる。このレトロウイルス配列を、内在性レトロウイルス (ERV) と呼ぶ。ERV 配列は、哺乳類のゲノムのおよそ 10% をも占めている。ほとんどの ERV は、変異や欠失、エピジェネティックな制御を受けてウイルス粒子を産生しない。

ゲノム学的には ERV は TE の一種に分類される。TE は大きく分けて、DNA 型 TE (トランスポゾン) と RNA 型 TE (レトロトランスポゾン) に分けられる。RNA 型 TE は、転写された RNA が逆転写により DNA になり、ゲノム内の別の場所に再び挿入される。このため、ゲノム中に多くの TE が増幅される。TE のなかで長い末端反復配列 (LTR) をもつ LTR レトロトランスポゾンは、RNA 型 TE に含まれる。LTR レトロトランスポゾンに、感染に必要なエンベロップ遺伝子が組み合わさり、細胞外に飛び出し、他の細胞に感染していくようになったものがレトロウイルスととらえることができる。

2000 年になって、ヒトの ERV (HERV) の一つである HERV-W が胎盤の形成に関与していることが分かった。以後の研究により、多くの ERV がほ乳類の胎盤形成に関わっており、ほ乳類の胎盤の多様化に ERV が寄与していることがわかった。ERV は細胞の初期化やその維持、自己免疫疾患やがんにも関与していることがわかりつつある。本講演ではレトロウイルスと生命の進化を俯瞰する。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Mammalian evolution by virus symbiosis and retroviruses

---

○Miyazawa T

Virus-Host Coevolution, Inst for Life and Med Sci, Kyoto Univ

Retroviruses can be considered as an evolved lineage of ‘transposable elements’ (TEs), which are closely related to genome complexity. Retroviral RNA is converted into DNA during replication and incorporated into the genomic DNA of the cell. Virus-derived DNA in this state is called provirus. When a gamete derived from a germline cell in which the provirus has been incorporated is fertilized and an individual develops from the fertilized egg, the genomes of all somatic and germline cells contain sequences derived from the retrovirus. These retroviral sequences are termed endogenous retroviruses (ERVs); ERV sequences make up approximately 10% of the mammalian genome. Most ERVs are mutated, deleted or epigenetically regulated and do not produce viral particles. Genomically, ERVs are classified as a type of TE, which can be broadly divided into DNA-type TEs and RNA-type TEs. In RNA-type TEs, transcribed RNA becomes DNA by reverse transcription and is inserted again elsewhere in the genome. LTR retrotransposons, which have long terminal repeats, are included in RNA-type TEs; LTR retrotransposons are combined with envelope genes required for infection. Studies have shown that many ERVs are involved in mammalian placentation. This talk will provide an overview of retroviruses and the evolution of life.

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

---



## MS3-1 末梢味覚受容メカニズムの解明：味覚障害誘発薬物をツールとしたアプローチ

○重村 憲徳<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能解析, <sup>2</sup>九大 五感応用デバイス研究開発セ

味覚は、生命活動を維持するために必要な物質を口腔内で感知する重要な感覚である。近年、味覚受容体は、口腔以外の脳、腸管、気管や免疫細胞など様々な臓器でも発現しており、臓器連関を介することで効率的な体内栄養バランスの維持や有害物質の排除を制御していることも明らかになってきた。味覚障害は、「味が分からない」や「いつも苦い」などの症状を呈し、食事への嫌悪などから低栄養状態を引き起こし、また、生活の質(QOL)にも大きな影響を及ぼす可能性がある。さらに、味覚受容体を発現する様々な臓器でも引き起こされる可能性も推定されることから、生活習慣病や感染性疾患等の発症にも関与することが示唆される。しかし、味覚障害発症の原因はほとんど不明である。そこで本研究では、味覚障害の分子基盤の解明とその理解に基づく新たな予防・治療手段の開発を目標として、味覚障害発症の原因として比較的多い薬剤性味覚障害、特に酸味あるいは塩味の感受性に影響を及ぼすことが推定される抗不整脈薬フレカイニドに着目して解析を行った。マウスを用いた味溶液摂取行動および味神経応答解析では、フレカイニドの単回投与により、酸味溶液に対する嗜好性の低下および味覚神経応答の有意な上昇が認められた。一方、他の基本味質に対しては、有意な変化は見られなかった。酸味受容体であるマウスオトペトリン1 (Otop1) を強制発現させた HEK293T 細胞において、フレカイニドは酸味溶液に対する応答を増強した。さらに、フレカイニド添加により味蕾オルガノイドの成長が抑制されることも分かった。以上の結果から、フレカイニドは Otop1 に直接作用して、酸味物質に対する味細胞の応答を増強するだけでなく(短期的効果)、味細胞の成長も阻害している(長期的効果)ことが明らかとなり、このフレカイニドによる Otop1 への直接作用がヒト味覚障害発症の一因である可能性が示唆された。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

### Mechanisms of peripheral taste perception: A research approach by using drugs inducing taste disorders

○Shigemura N<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>2</sup>Res Deve Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ

Taste disorder may cause malnutrition by decreased food intake due to changes in taste sensitivity, which has a great effect on quality of life (QOL). However, the cause of taste disorder is largely unknown. In this study, in order to elucidate the molecular basis of the taste disorder and develop new preventive and therapeutic methods, we focused on antiarrhythmic drug flecainide which has been reported to induce taste disorder. Behavioral and taste nerve recording analyses showed that aversive responses to sour stimuli significantly enhanced after administration of flecainide without any effect on other basic taste responses such as sweet, salty, bitter and umami. In HEK293T cells heterologously expressing the acid taste receptor, mouse otopetirin 1 (Otop1), the cellular responses to sour tastants also enhanced after flecainide administration. Furthermore, flecainide suppressed the growth of taste bud organoids. These results suggest that flecainide acts directly on Otop1 resulting not only in enhancing the sour taste responses (short-term effect), but also in inhibiting the growth of taste cells (long-term effect), which may partly contribute to the onset of flecainide induced taste disorder in human.

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



---

## MS3-2 大脳皮質味覚野における情報処理機構

---

○小林 真之

日大 歯 薬理

味覚情報は、大脳皮質の中でも特に島皮質において最終的に処理されると考えられている。齧歯類の島皮質は、吻尾側方向に長く、腹側から背側に向かって細胞構築学的に無顆粒皮質、不全顆粒皮質、顆粒皮質に分けられる。我々は、島皮質における神経回路について光学計測法を用いて巨視的視点に立った研究を進めてきた。その結果、島皮質内では、吻尾側方向の神経結合が強く、味覚刺激に応答するニューロンは、中大脳動脈付近の不全顆粒皮質および顆粒皮質に存在することを明らかにした。さらに、味覚の認知に至る過程で重要な嗅覚との相互作用が、無顆粒皮質の最吻側部で生じる可能性を見いだした。これらの *in vivo* 実験と並行して、微視的視点からホールセル・パッチクランプ法を用いた研究を行い、特に抑制性シナプス伝達の特徴およびその伝達効率を修飾する生理活性物質とその作用機序を明らかにしてきた。

最近では、覚醒ラットにブザー音を合図にレバー押しを行わせ、成功報酬としてサッカリンを与える学習課題を遂行中の島皮質ニューロンの活動を検索した。島皮質には豊富な抑制性ニューロンが存在することから、興奮性ニューロンを最も効果的に抑制する fast-spiking ニューロンに注目して解析を進めており、興奮性ニューロンとの活動の同期性について明らかにしつつある。

これら島皮質における知見が、味刺激が味蕾で受容されてから認知に至るまでの神経機構を統合的に理解するための一助となれればと考えている。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Mechanisms of gustatory information processing in the cerebral cortex

---

○Kobayashi M

Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

Gustatory information is finally processed in the cerebral cortex, especially in the insular cortex. We uncovered the excitation profiles of the insular cortex using optical imaging techniques at a macroscopic scale and found the rostrocaudal excitation flow in the IC and the location of gustatory neurons around the middle cerebral artery. We also found that gustatory inputs from the peripheral nerve are converged with olfactory information in the rostral agranular insular cortex. In parallel, microscopic analyses have been done by whole-cell patch-clamp recordings, which revealed the synaptic profiles of the insular cortex and cellular mechanisms of neuromodulators affecting neural transmission. Recently, we have performed multiple extracellular recordings from fast-spiking inhibitory neurons and non-fast-spiking neurons (presumably excitatory neurons) during the cue-guided lever-manipulation task and found that the synchronized activities between fast-spiking and non-fast-spiking neurons not only in the taste-identification period but also in the reward-waiting period. This presentation will summarize the studies described above, and I hope that these findings of the insular cortex contribute to the integrated understanding of gustatory information processing mechanisms.

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

---

---

### MS3-3 ヒトの味覚・嗅覚研究の進展と今後の展望—非侵襲的計測法を用いた味覚・嗅覚の認識機構の可視化

---

○佐原 資謹

東北大 院歯 歯学イノベーションリエゾンセ 異分野融合

---

ヒトの感覚の研究に、CT (computer tomography), MRI (magnetic resonance imaging), MEG (magneto-encephalography) などの非侵襲的検査法を用いることで、大脳皮質の機能地図や機能結合ネットワークの可視化が可能となってきた。本講演では、嗅覚・味覚の認識研究において非侵襲的検査法を用いた例を紹介する。

におい物質 (イソ吉草酸, ペパーミント, コーヒー) と空気 (無臭) 刺激により、島皮質, 梨状皮質, 前頭皮質, 帯状皮質, 海馬, 扁桃体, 視床に fMRI の活性化が見られ、におい物質刺激では梨状皮質→前頭連合野, 空気刺激では視床→梨状皮質→前頭連合野の機能結合モデルが得られた。また、味物質 (酢酸とショ糖) と水 (無味) 刺激では、島皮質, 前頭皮質, 帯状皮質, 大脳基底核, 海馬, 扁桃体, 視床に fMRI の活性化がみられ、味刺激により島皮質→前頭連合野, 帯状回, 扁桃体の機能結合モデルが得られた。一方、MEG では味刺激に一致して  $\alpha$ - $\gamma$  帯域にオシレーションが記録された。MEG の神経活動記録と MRI の脳画像とを組合せて信号源解析を行うと、刺激後 100-400 ms 間の  $\alpha$ - $\beta$  帯域の信号の信号源として、脳幹, 視床, 島皮質, 前頭連合野が推定された。

今後の展望: ヒトの脳活性化部位を、空間的・時間的に高精度に可視化し、機能結合モデルを作ることにより、“感覚・認識に関わる神経回路”のみならず“咀嚼・嚥下運動の開始, 制御, 遂行に関わる神経回路”の研究が進展すると期待される。さらに、高齢化社会を迎え注目されている、加齢変化や摂食・嚥下障害や認知症などの病態生理研究, その診断, 治療, リハビリテーションなどの臨床研究にもつながると考えられる。

**【利益相反】** 著者は利益相反状態にあります。

---

### Progress and future prospects of human taste and smell research—Visualization of taste and smell recognition mechanisms using non-invasive method

---

○Sahara Y

Div Interdiscipl Integr, Liaison Cent Innov Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

In human sensory research, non-invasive methods such as CT (computer tomography), MRI (magnetic resonance imaging), and MEG (magneto-encephalography), have made it possible to visualize functional maps and functional networks in the cerebral cortex. In this talk, I will present an example of applying non-invasive methods for the study of olfaction and taste perception.

Odorants and air (odorless) stimuli activated fMRI in insular cortex (ICx), piriform cortex (PCx), frontal cortex (FCx), cingulate cortex (CCx), hippocampus (hc), amygdala (Amy) and thalamus (Th). A functional model was obtained in which PCx → FCx was activated by odorant stimulation, and Th → PCx → FCx by air stimulation. Taste substances and water (tasteless) activated fMRI in ICx, FCx, CCx, basal ganglia, hc, Amy, and Th. In MEG, taste stimuli induced  $\alpha$ - $\gamma$  band oscillation, where the signal source was estimated in the brainstem, Th, ICx, and FCx for the  $\alpha$ - $\beta$  band signals between 100-400 ms after stimulation.

Future perspective: Visualizing the activated brain areas with spatial and temporal accuracy makes it possible to create functional models to study “neural circuits involved in sensation and recognition”, as well as “neural circuits related to chewing and recognition”. Furthermore, it is expected to lead to pathophysiological research on aging and dementia, eating and swallowing disorders.

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

---

---

## MS4-1 歯学教育モデル・コア・カリキュラムの改訂—良き歯科医師の養成をめざして—

---

○河野 文昭

徳大 院医歯薬 総合歯科

---

歯学教育モデル・コア・カリキュラム（以下、コアカリという。）は、平成13年に、医学・歯学教育の在り方に関する調査研究協力者会議の答申をもとに策定され、国民の医療に求めるニーズに沿って平成19年に一部改訂、平成23年、平成29年には大幅な改訂が行われた。平成28年度改訂版コアカリから、医科、歯科医師として求められる基本的な資質・能力（以下、「資質・能力」という。）の共有化がはかられ、医療人としての価値観が共有された。今回の改訂では、資質・能力の見直しを行い、このコロナ禍で進んだ医療のICT化の促進や今後医療の改革を起こすであろうAIやロボット、医療情報のビッグデータの解析など情報技術の進歩に対応できる医療の情報に関する能力を資質・能力に追加した。

これまでのコアカリが学修目標の列記に留まっていたものから、学修方略、学修評価を態度、技能に絞って掲載することとし、文部科学省主催の医学・歯学教育指導者のためのワークショップのアンケート結果や連絡調整委員会からの意見を取り入れながら、精力的にコアカリ改訂を進めた。今回の改訂版コアカリが、全国歯科大学・歯学部の歯学教育の参考となり、歯学教育の全体的なボトムアップに繋がることを期待している。

今回は、改訂作業にあたりアウトカム基盤型カリキュラムへの深化をさらに進め、A領域として記載されていた資質・能力を卒前教育で修得するものに留まらず、医療人が生涯研鑽していく資質・能力として位置づけて記載し、第1章として独立させた。新たに策定した10個の資質・能力には説明文をつけるとともに、卒業時点での到達目標を示し、その目標を達成するための学修目標を第2章に列記するよう見直しを進めた。この講演では、コアカリ改訂の概要について述べる。

**【利益相反】** 著者は利益相反が無いことを宣言する。

---

## Revision of the Model Core Curriculum for Dental Education —Aiming to train good dentists—

---

○Kawano F

Grad Sch Inst Biomed Sci, Dept Comprehensive Dent, Tokushima Univ

---

In the revision process of the Model Core Curriculum for Dental Education, we further deepened the outcome-based curriculum, and the qualities and abilities listed in Domain A were not limited to those acquired in pre-graduate education but were positioned and listed as qualities and abilities that medical professionals should study throughout their lives and were made independent as Chapter 1. The 10 newly formulated qualities and abilities were revised to include explanatory text, to indicate the goals to be attained at the time of graduation, and to show the learning objectives to achieve those goals in Chapter 2. This presentation will provide an overview of the Core Curriculum revisions.

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

---

---

## MS4-2 歯学モデル・コア・カリキュラム改訂における基礎系の変更点

---

○照沼 美穂

新潟大 院医歯 口腔生化

---

令和5年度に歯学モデル・コア・カリキュラムの改訂が行われる前に、基礎系の改訂の担当者として、どのようなコンセプトで今回の改訂に着手したかについてと、実際の各分野の変更点について、説明をさせていただきたい。

また、研究者の育成を考えた時の歯学モデル・コア・カリキュラムの位置付けや改善点などについても意見交換をする機会にしたい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Model core curriculum for dental education: changes made in the field of basic sciences in this revision

---

○Terunuma M

Div Oral Biochem, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

Before the release of revised version of Model Core curriculum for Dental Education in 2024, I would like to discuss about the concept of this revision in the field of basic sciences and how the changes in each field were made.

I welcome your opinion and feedback as a user of the Model Core curriculum, and I would like to take this opportunity to think about the position of this curriculum in the Dental education especially to attract students in basic sciences.

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

---

---

## MS4-3 研究マインドの涵養—徳島大学医学部医学科 Student Lab・医学研究実習の取組み—

---

○野間口雅子<sup>1</sup>, 安友 康二<sup>2</sup>, 片桐 豊雅<sup>3</sup>, 安倍 正博<sup>4</sup>, 西岡 安彦<sup>5</sup>

<sup>1</sup>徳大 院医歯薬 微生物病原, <sup>2</sup>徳大 院医歯薬 生体防御医学, <sup>3</sup>徳大 先端酵素学研 ゲノム制御, <sup>4</sup>徳大 院医歯薬 血液・内分泌代謝内科, <sup>5</sup>徳大 院医歯薬 呼吸器・膠原病内科

医学教育モデルコアカリキュラム (平成 28 年度改訂版) において, 医師として求められる基本的な資質・能力の一つに「科学的探究」がある。医学・医療の発展のための医学研究の必要性を十分に理解し, 批判的思考も身に付けながら, 学術・研究活動に関与する, ことが挙げられている。徳島大学医学部医学科では, 1 年次から Student Lab 活動, 3 年次には医学研究実習を行いリサーチマインドの涵養に努めると共に, プレ配属として研究倫理教育等の充実も図っている。Student Lab は, まず医学研究に興味・関心を持ってもらうことを目的に, 希望する学生が分野で実験・研究活動を行う取組みである。医学研究実習では, 学生の希望に応じて配属分野を決定し, 約 8 か月間医学研究を行う。最終的に学生は研究発表を行うが, 重視している点は, 発表するための研究結果・成果を出すことではなく, 「研究プロセス (課題発見・仮説立案・実験/実証・課題解決)」を学ぶこと, である。学生が配属分野で研究に携わることで, 科学的探究力・研究力を実践的に身に付けていくことに主眼を置いている。これがひいては, 問題解決能力の高い臨床医の養成, および, 科学研究の進展による医学・医療の進歩への貢献に繋がると考えている。さらに最近, 1) Student Lab 活動と医学研究実習からの研究活動継続による大学院進学, 2) 総合型選抜 (四国研究医枠) の実施, により, 将来の医療・研究を担う基礎研究医・臨床研究医の人材育成を目指した取組みを進めている。本演題では, 入試選抜, カリキュラムおよび大学院を通じた医学科でのリサーチマインドの涵養に関する取組みを発表する。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Fostering research mind through Student Laboratory and Medical Research Practice in Tokushima University Faculty of Medicine

---

○Nomaguchi M<sup>1</sup>, Yasutomo K<sup>2</sup>, Katagiri T<sup>3</sup>, Abe M<sup>4</sup>, Nishioka Y<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Dept Microbiol, Grad Sch Med, Tokushima Univ, <sup>2</sup>Dept Immunol Parasitol, Grad Sch Med, Tokushima Univ, <sup>3</sup>Div Genome Med, Inst Adv Med Sci, Tokushima Univ, <sup>4</sup>Dept Hematol, Endocrinol Metabol, Grad Sch Med, Tokushima Univ, <sup>5</sup>Dept Respirat Med Rheumatol, Grad Sch Med, Tokushima Univ

In the Model Core Curriculum for Medical Education in Japan, it is mentioned that one of the important qualities/abilities of doctors is “scientific inquiry” to be involved in medical research that contributes to further developing medicine and medical science. In order to foster a medical doctor with a scientific research mind, “Student Laboratory” and Medical Research Practice as a curriculum are conducted along with research ethics education in Tokushima University Faculty of Medicine. The primary aim of Medical Research Practice is learning the process of research including finding out issues to be solved and planning hypotheses and experiments. We believe that this will lead to the training of clinicians with high abilities to solve issues and contribute to the advancement of medicine and medical science through the progress of scientific research. This will in turn bring us basic and clinical research doctors who will be responsible for future medicine and medical research. In this presentation, we talk about our efforts to foster doctors with research minds.

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

---



---

## MS4-4 DDS-PhD コースで学んだこと

---

○渡邊 毅

徳大 院医歯薬 予防医学

---

私が東京医科歯科大学歯学部4年次にDDS-PhDコース（学部4年次終了後、先に大学院に進学し、大学院修了後に5年次に復学し歯科臨床を学ぶコース）を選択して10年以上が経過しました。今回このように、DDS-PhDコースについてお話しさせていただく機会をいただき、当時のことを振り返ってみました。論文を書き終えることができないまま大学院生活を終えて学部に戻ったこと、歯科の臨床や技工についての知識がすっかり抜けていたこと、だいたい年下の同期の学生さんに支えてもらいながら、なんとか実習をこなしたことなど、色々大変なことも多かったことが思い出されます。しかし、研究テーマも場所も転々としながらも、現在楽しく研究生活を続けることができているのは、大学院時代に学んだことが活かしているからだと感じることが多く、DDS-PhDコースを選択して本当によかったなとしみじみ思っております。

ここでは、自身がDDS-PhDコースを選択した理由、大学院時代、学部復学後に楽しかったこと、辛かったことなど、当時を振り返り、さらに、今の学生さんが制度についてどのように考えているのか、また、制度の担当者の方に現状や当時との違いについて伺ってみたことを踏まえて考察したいと考えております。最後に私がDDS-PhDコースを選択してから現在に至るまで、さらに今後の展望についても簡単にお話しさせていただきます。

今回のお話が、先生方にとってDDS-PhDコースを歯科学生の進路の選択肢の一つとして考えてもらえるきっかけになりましたら幸いです。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### What I learned in DDS-PhD course

---

○Watanabe T

Dept Prev Med, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

---

More than 10 years have passed since I chose DDS-PhD course (a degree program, which students can enter graduate school after completing their fourth grade of undergraduate school and then return to the fifth grade to study clinical dentistry after completing graduate school.) at Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University.

In this talk, I would like to look back on these days: the reasons why I chose the DDS-PhD course; what I enjoyed and what was difficult during the course and after I got back to fifth grade of undergraduate school. I would also like to discuss what students today think about the course. Moreover, I'm planning to ask about the current situation of the course to the staff in charge of the course. Finally, I would like to talk briefly about my current situation and, as well as about my future prospects.

I hope this talk will encourage those attending the symposium to consider DDS-PhD course as one of the possible career options for dental students.

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

---

---

## IRS-1 老化により生じる全身性変化とその特徴—フレイル・サルコペニアを中心に—

---

○杉本 研

川崎医大 総合老年医学

---

人は生物としての老化を免れることができないが、老化に影響する因子が多様であること、また高齢化による平均寿命の延長から、その個人差が大きくなっている。このことが高齢者を「年齢」や「見かけ」で判断することを難しくしている。

老化は生理的老化と病的老化に大きく分けられるが、これらが複雑に関連して生じる高齢者特有の病態・症候のことを「老年症候群」と呼ぶ。老年症候群にはふらつき、転倒、頻尿、うつ、口腔機能低下などがあるが、これらは臓器別診療の狭間で放置されやすく、不可逆な状態になると要介護や寝たきりへと移行するため、早期に原因を特定し、医療だけでなく看護や介護により対応することが求められる。

老年症候群の特定に有用となるのが高齢者総合機能評価 (CGA) であり、可逆性を判断するにはフレイル評価が有用となる。CGAによりADLや精神心理状態、社会的状況などを評価し、フレイル評価と組み合わせることにより、高齢者個人が抱える問題点を明らかにし、必要な介入または対策を講じることが可能となる。

フレイルは身体的・精神的・社会的側面を有し、それらが複雑に関連し合いながら生じると考えられている。身体的フレイルの中核をなす病態がサルコペニアであるが、筋疾患として他の疾患との関連から、発症メカニズムから治療ターゲットに至るまで研究が進められている。これまでの研究から炎症や酸化ストレス、インスリン抵抗性などにより筋タンパクのネットバランスが負に制御されること、また骨格筋ミトコンドリア機能低下やオートファジー、筋衛星細胞の機能低下、筋血流の低下などがサルコペニアの発症や進展抑制に関連することが報告されており、それらを元にした介入法の確立が進められている。

本シンポジウムでは老年症候群、フレイル・サルコペニア診療における現状とともに、サルコペニアの発症や介入効果に関する研究の一端を紹介したい。

**【利益相反】** 本発表に関し、開示すべき利益相反はありません。

---

## Systemic changes and their characteristics with aging —with a focus on frailty and sarcopenia—

---

○Sugimoto K

Gen Geriatr Med, Kawasaki Med Sch

---

People are not immune to aging, but the diversity of factors affecting aging and the increase in average life expectancy due to the super-aged society have led to greater individual differences in aging. This makes it difficult to judge the situation of older adults by “age” or “appearance”.

Aging is broadly divided into physiological aging and pathological aging, and the pathological conditions and syndromes unique to older adults that arise in complex association with these two types of aging are called “geriatric syndromes”. Geriatric syndromes, like unsteadiness, falls, frequent urination, depression, and oral dysfunction, etc., are easily neglected in organ-specific medical care, and when they become irreversible, they lead to the need for nursing care and bedridden status.

The comprehensive geriatric assessment (CGA) is useful for identifying geriatric syndromes, and frailty assessment is useful for determining reversibility. By assessing ADL, psycho-psychological status, and social status through CGA and frailty, it is possible to identify problems faced by individual older adults and to take necessary interventions or countermeasures.

Frailty has physical, mental, and social aspects, which are thought to occur in complex interactions. Sarcopenia is the core pathology of physical frailty, and focusing on the relationship with other diseases, the research on sarcopenia is being conducted from pathogenesis mechanisms to therapeutic targets. Previous studies have reported that the net balance of muscle proteins is negatively regulated by inflammation, oxidative stress, insulin resistance, and other factors, as well as that muscle mitochondrial dysfunction, autophagy, impaired muscle satellite cell function, and reduced muscle blood flow are associated with the development and suppression of sarcopenia. Based on these findings, useful interventions are now being established.

In this presentation, we would like to introduce the current situation in the treatment of geriatric syndromes, frailty and sarcopenia, as well as some of the research on the pathogenesis of sarcopenia and the effects of interventions.

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

---

---

## IRS-2 骨格筋萎縮が誘発する認知機能障害—筋から分泌される悪性マイオカイン—

---

○東田 千尋, 井城 綸沙

富大 和漢医薬学総合研 神経機能

---

アルツハイマー病発症の危険因子に関する疫学的研究は数多くあり, 運動が認知機能に有益であることは, 複数の疫学・臨床研究から示唆されている. 逆に, 加齢により筋量・筋力が低下する状態であるサルコペニアと認知症の併存率が高いことや, 長期入院により認知症発症リスクが高まることが報告されており, 身体活動低下と認知機能低下との関連が注目されている. しかし, 骨格筋萎縮によって認知機能が低下することを直接証明した研究はなかった.

運動により骨格筋から分泌が増し, 骨格筋自体や他の臓器に有益な影響を及ぼす myokine 群に注目した研究が進んでいるが, 我々は, 運動不足すなわち筋萎縮によって何らかの悪性 myokine が増加し, それが脳に達して認知機能を障害するのではないかという仮説を立てた.

アルツハイマー病モデルの 5XFAD マウスを用い, 記憶障害が起こる前の若齢時に, 後肢に 2 週間のキャスト装着を行い廃用性筋萎縮を誘発した. キャスト非装着マウスでは記憶能力が正常だったが, 廃用性筋萎縮マウスでは若齢にも関わらず記憶障害が発症した. 萎縮した骨格筋から分泌される分子を網羅的に調べた結果, 特に hemopexin タンパク質が増加していた. 筋萎縮したマウスでは, hemopexin 量が骨格筋のみならず, 血中, 脳の海馬で増えていた. 次に若齢 5XFAD マウスの脳室内に直接 hemopexin を 2 週間, 連続的に投与したところ記憶障害が発症した. このマウスの脳内で起きている変化を網羅的に調べた結果, 神経炎症に関わる因子として知られている lipocalin-2 が増加していた.

以上本研究は, 骨格筋の萎縮が認知機能障害の引き金を引くことを初めて明らかにした.

この知見を応用し, 骨格筋からの hemopexin の分泌を特異的に抑止することによって, 認知症の発症を予防する可能性についても検証している.

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する.

---

## Skeletal muscle controls the onset of dementia: Unbeneficial molecule is secreted from atrophied skeletal muscle and is delivered to the brain

---

○Tohda C, Iki T

Sect Neuromed Sci, Inst Nat Med, Univ Toyama

---

Age-associated muscle atrophy is known as sarcopenia. The relationship between sarcopenia and cognitive function has been shown to be negatively correlated by the cross-sectional study of healthy old men and meta-analysis. Although those studies suggest the relationship among aging, skeletal muscle atrophy, and cognitive decline, no obvious evidences show that skeletal muscle atrophy directly induces cognitive impairment. We hypothesized that some molecules traveling from the atrophied skeletal muscles to the brain may affect the brain function. Such as “unbeneficial myokine for brain function” has not been identified yet. Therefore, this study aimed to elucidate the phenomenon of the skeletal muscle atrophy-induced acceleration of AD onset and its molecular mechanism.

This study revealed that the disuse-induced skeletal muscle atrophy shifted the onset of memory dysfunction earlier without increasing the deposition of A $\beta$  in young mice model of AD. The atrophied muscles secreted hemopexin, and hemopexin was transported to the brain, possibly via systemic circulation. Moreover, increased levels of hemopexin in the brain or cast immobilization-induced muscle atrophy similarly impaired memory function and elevated the expression of neuroinflammatory factor, lipocalin-2 (LCN2) in the hippocampal CA3 neurons.

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

---

### IRS-3 障害モデル動物を用いた摂食嚥下運動の観察

○井上 誠, 辻村 恭憲, 真柄 仁, 中嶋 優太, Titi Chotirungsan, 筒井 雄平,  
川田 里美

新潟大 院医歯 摂食嚥下リハ

加齢や種々の疾患によってもたらされる摂食嚥下障害は、ことに高齢者において生命を脅かす問題となる。本研究では、摂食嚥下障害の原因疾患となる脳血管疾患に伴う咀嚼嚥下運動不全や嚥下反射惹起遅延などの病態がどのようなメカニズムによって引き起こされるかについてモデル動物を用いて検討した。脳血管疾患に伴う摂食嚥下障害モデルのひとつとして用いられる中大脳動脈閉塞 (MCAO) モデルでは、その作製過程において同側の外頸動脈を結紮するが、これ自体が同動脈支配下の顎口腔顔面領域への影響を強く受ける。我々ははじめに外頸動脈結紮 (ECL) モデルならびに MCAO モデルにおいて、即時的、長期的な同側の顎口腔顔面運動への影響を調べた。その結果、即時的には嚥下反射誘発、開口反射の誘発閾値、筋活動の振幅などへの影響をもたらさず、また結紮 2 週後の摂食嚥下運動を検索したところ、咀嚼回数ならびに咀嚼サイクル時間の減少が認められたものの、1 咀嚼サイクルにおける開口筋と閉口筋のリズムパターンには影響がなかった。さらに、同側の咬筋、舌筋には明らかな萎縮が観察されなかった。脳血管疾患モデルにおけるこれまでの知見—嚥下反射誘発遅延や運動パターンの変化—は、手術手技によるところが大きいことが示唆された。次に、嚥下反射惹起遅延が唾液分泌量低下によるものと考えて、末梢の唾液分泌を枯渇化する目的でメチルアトロピン (1 mg/kg, iv) 投与下にて、蒸留水、NaCl (0.154 M), KCl (0.154 M) の微量喉頭滴下による嚥下反射誘発回数を比較したところ、嚥下誘発回数は KCl > 蒸留水 > NaCl となり、メチルアトロピンによる影響は認められなかった。さらに、食道咽頭逆流モデル動物では、繰り返される胃酸の逆流による喉頭浮腫が嚥下反射惹起遅延をもたらすことが示された。これらの結果は、加齢に伴う嚥下反射惹起遅延のメカニズム解明の一助となり得る。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

### Effect of age-associated diseases on chew and swallow in vivo animal model

○Inoue M, Tsujimura T, Magara J, Nakajima Y, Chotirungsan T, Tsutsui Y, Kawada S  
Div Dysphagia Rehabil, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Dysphagia caused by aging and various diseases is a life-threatening problem, especially in the elderly. In this study, we investigated the mechanism of dysfunctional mastication and swallow and delayed swallow using age-associated diseases model animals. To produce middle cerebral artery occlusion (MCAO) model, the external carotid artery is ligated during the production process, which must strongly affect sensory and motor function of orofacial area. We first investigated the immediate and long-term effects on ipsilateral maxillofacial movement in the external carotid artery ligation (ECL) model and MCAO models. As a result, initiation of swallowing reflex and trigeminal reflex were not affected in both conditions. There was no effect on the rhythmic chewing patterns, and no obvious atrophy was observed in the masseter and tongue muscles. These results suggest that, at least in the rat, orofacial function may be secured probably by the blood flow not only from the external carotid artery after stroke occurrence. Next, considering that the delay in inducing the swallowing reflex in elderly patients is due to a decrease in saliva production, distilled water, NaCl under administration of methylatropin for the purpose of depleting peripheral saliva secretion. The number of swallowing reflex inductions by a small amount of KCl aqueous solution was compared, and no change was observed. It was also shown that laryngeal edema due to repeated gastric acid reflux caused delayed swallowing. This result may help elucidate the mechanism of delay in evoking the swallowing reflex with aging.

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



---

## IRS-4 転写調節因子 Phox2b を発現するニューロンの咀嚼様顎運動リズム形成と唾液分泌制御に対する役割

---

○井上 富雄<sup>1</sup>, 中山希世美<sup>1</sup>, 中村 史朗<sup>1</sup>, 梶原 里紗<sup>2</sup>, 望月 文子<sup>1</sup>, 壇辻 昌典<sup>1</sup>

<sup>1</sup>昭大 歯 口腔生理, <sup>2</sup>昭大 歯 全身管理歯科 歯科麻酔

---

自律神経中枢の発生に関わる転写調節因子 Phox2b を発現するニューロンは、延髄孤束核、三叉神経上核、小細胞性網様体/中間網様核などに多数存在する。私たちは、これらの領域の Phox2b 陽性ニューロンは軸索を三叉神経運動核に送り、顎運動の調節に関わる可能性を示してきた。顔面神経核腹側に存在する Phox2b 陽性ニューロンは、呼吸のリズム形成に関わることが知られている。そこで Phox2b 陽性ニューロンが咀嚼様顎運動の形成に関わるかを、Phox2b 陽性ニューロンに光感受性タンパク質のチャンネルロドプシンが発現する遺伝子改変ラットを用いて調べた。延髄孤束核を照射すると、開口筋（顎二腹筋）に 4-6 Hz のリズムカルな筋活動が現れたが、閉口筋（咬筋）には時折わずかな活動が見られるのみだった。三叉神経上核への照射では、開口筋と閉口筋で同期した 8-10 Hz の筋活動が見られた。一方、小細胞性網様体/中間網様核への照射では、開口筋と閉口筋の両方に 4-6 Hz の筋活動が見られたが、筋活動の位相にずれがあり、閉口筋の活動が開口筋の活動に先行した。

唾液は咀嚼とともに唾液腺から大量に分泌され、食塊を形成し円滑に嚥下を行うのに役立つ。脳幹の Phox2b 陽性ニューロンは興奮性ニューロンであるため、Phox2b 陽性ニューロンが上唾液核ニューロン（唾液腺を支配する節前ニューロン）を興奮させるかどうかを調べた。上と同様の遺伝子改変ラットの脳幹スライス標本を用いて、小細胞性網様体/中間網様核に光を照射すると、上唾液核ニューロンに興奮性のシナプス後電流（EPSC）が発生した。以上の結果から、Phox2b 陽性ニューロンはリズムカルな咀嚼様顎運動の誘発に関わり、存在部位によって顎運動誘発に対する影響が異なる可能性がある。さらに Phox2b 陽性ニューロンは、咀嚼に伴う唾液分泌にも関わる可能性がある。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Roles of Phox2b-expressing neurons in generation of rhythmic jaw movement and control of salivation in the rat

---

○Inoue T<sup>1</sup>, Nakayama K<sup>1</sup>, Nakamura S<sup>1</sup>, Kajiwara R<sup>2</sup>, Mochizuki A<sup>1</sup>, Dantsuji M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Anesth, Showa Univ Sch Dent

---

The paired-like homeobox 2b gene (*Phox2b*)-expressing ( $Phox2b^+$ ) neurons are abundantly found in the solitary nucleus, supratrigeminal region, parvocellular and intermediate reticular formation (PCRt/IRt). We have demonstrated that  $Phox2b^+$  neurons may contribute to jaw movement regulation. Since  $Phox2b^+$  neurons ventral to the facial nucleus contributes to respiratory rhythm generation, we examined whether  $Phox2b^+$  neurons are involved in masticatory-like rhythm generation using transgenic rats with  $Phox2b^+$  neurons expressing channelrhodopsin variant ChRFR (C167A). Photostimulation applied to the solitary nucleus and supratrigeminal region induced rhythmic activity in the digastric muscle at 4-6 Hz with marginal masseteric activity and synchronized rhythmic activities in both muscles at 8-10 Hz, respectively. In contrast, PCRt/IRt stimulation induced rhythmic activities at 4-6 Hz where the masseteric activity preceded the digastric activity.

Saliva is massively secreted during mastication. Since most  $Phox2b^+$  neurons are excitatory, we examined whether they activate preganglionic neurons in the superior salivatory nucleus that control salivation. Photostimulation to the PCRt/IRt in the slice preparation from the above transgenic rats induced postsynaptic excitatory responses in the preganglionic neurons. Those results suggest that  $Phox2b^+$  neurons may be involved in masticatory-like rhythm generation and their roles may vary by their location.  $Phox2b^+$  neurons may also contribute to salivary secretion during mastication.

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

---



---

## SCJS-1 口腔がん微小環境の制御による新規治療法の開発

---

○渡部 徹郎

医科歯科大 院医歯 病態生化

口腔がんは口腔内に生じるがんの総称であり、外科療法の技術は進んでいるが、口腔・顔面領域の手術は見た目をはじめ、食事や会話などの、重要な機能に影響を及ぼすため、投薬による口腔がんの治療法の開発は急務である。がん微小環境では、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)などの構成細胞間での相互作用によって、腫瘍の進展が制御されており、こうした「がん微小環境ネットワーク」は新たな治療標的として注目されている。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。我々は多くのがん種において発現が上昇しているトランスフォーミング増殖因子(TGF- $\beta$ )によって誘導されるEndoMTの過程で内皮細胞自身からTGF- $\beta$ 2が産生されるようになり、不可逆的にEndoMTを進行させていることを見出した。また、EndoMTを誘導した内皮細胞から分泌されるTGF- $\beta$ 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- $\beta$ 2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。我々はTGF- $\beta$ 2が頭頸部がん患者の予後不良因子であることも見出しており、本シンポジウムにおいてはTGF- $\beta$ 2を含めたすべてのTGF- $\beta$ アイソフォームを阻害する新規Fc融合タンパク質製剤を開発したため、このTGF- $\beta$ シグナルを標的とした新規治療方法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, Grad Sch Med Dent Sci, Tokyo Med Dent Univ

Tumor tissue is composed of multiple components including cancer cells, blood vessels, cancer associated fibroblasts (CAFs) and immune cells. These components interact with each other through various soluble factors and form tumor microenvironment (TME) network. Recent lines of evidence suggested that the TME affects tumor growth and progression, making it an important therapeutic target. However, in order to develop effective therapeutic strategies of intractable cancers, it is important to understand the molecular mechanisms by which such soluble factors regulate the TME networks. Many cancer types express high levels of TGF- $\beta$ , which induces EndoMT of blood vascular endothelial cells (BECs), leading to formation of CAFs. Although we previously reported that CAFs derived from EndoMT promoted tumor formation, the molecular mechanisms underlying these interactions remain to be elucidated. In the present study, we found that treatment of BECs with TGF- $\beta$  exhibited sustained activation of Smad2/3 signals, which was presumably induced by elevated expression of TGF- $\beta$ 2, suggesting that TGF- $\beta$  maintains EndoMT by augmenting TGF- $\beta$  family signals. Furthermore, oral cancer cells underwent epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in response to TGF- $\beta$ 2 produced by BECs that have undergone EndoMT. Collectively, our findings suggest that TGF- $\beta$  induces EndoMT of BECs, which contributes to progression of oral cancer.

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

---

---

## SCJS-2 がんおよび感染症における血管病態の解明

---

○間石 奈湖, 樋田 京子

北大 院歯 血管生物分子病理

---

血管は様々な病気において重要な役割を果たしている。私達はこれまでがんや感染症における血管の病態について様々な検討を行ってきた。がん組織において血管（腫瘍血管）はがんの栄養や酸素を供給するなどがんを養い、さらに転移の経路を供給することからがんの進展に重要である。私達は腫瘍血管の内側を裏打ちしている腫瘍血管内皮細胞に着目し、その性質を詳細に解析してきた。腫瘍血管内皮細胞は正常組織の血管内皮細胞とは性質が異なり様々な異常性を示すこと、Biglycanなどを分泌することでがん細胞の血管内侵入・遠隔転移を促進することを明らかにした。したがって、腫瘍血管は単なる管としての役割を果たすだけでなく、積極的にがんの悪性化に寄与することが明らかになった。最近では、虫歯の原因であるミュータンス菌が血液を介して肺の血管に炎症を引き起こすこと、その炎症性変化ががんの転移を促進することをマウスモデルを用いて明らかにした。リンパ球が血管からリンパ系へ移行する際の連結部の役割を果たしている高内皮細静脈（HEV）は、近年ではがん組織にも存在することが報告されている。口腔癌組織におけるHEVの存在意義も含め、がんにおいて血管が果たす役割について最近の知見を論じたい。

2019年に報告され、世界中で未曾有の被害をもたらしたSARS-CoV-2を原因ウイルスとする新型コロナウイルス感染症は、一部の人に重篤な肺炎を引き起こし、死に至らしめる。加齢、糖尿病、肥満など慢性的な血管炎症をもつ患者がハイリスクとされており、重症例や死亡例では広範な血栓塞栓症や重度の血管炎が観察され、血管が重症化で重要な役割を果たしていることが示唆されているものの、血管内皮病態については依然不明な点が多い。私達はマウス感染モデルを用いて、血管病態について解析してきた。本講演では、新型コロナウイルス感染症重症化における血管内皮細胞の役割についても、最近の知見も交えて議論したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Elucidation of vascular pathology in cancer and infectious diseases

---

○Maishi N, Hida K

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

---

Blood vessels play important roles for various diseases. Tumor blood vessels nourish cancer by supplying nutrients and oxygen, and also provide a route for metastasis. We have studied tumor endothelial cells (TECs) lining tumor blood vessels and found their abnormal phenotypes. These TECs contribute to metastasis by secreting biglycan which stimulates tumor cell intravasation and metastasis. Recently, we found that one of the oral bacteria, *S. mutans* cause vascular inflammation in distant organs, which induces tumor metastasis. High endothelial venules (HEVs), which serve as junctions for lymphocytes as they migrate from blood vessels to the lymphatic system, have recently been reported to be present in tumor tissues. We will discuss recent findings on the role of blood vessels in tumors, including the significance of HEVs in oral cancers.

COVID-19, the new coronavirus infection, sometimes causes severe pneumonia and death. Patients with chronic vascular inflammation are considered at high risk, and extensive thromboembolism and severe vasculitis have been observed in severe cases, suggesting that blood vessels play an important role in aggravation. We have analyzed vascular pathology using mouse infection models. In this symposium, we would like to discuss the role of endothelial cells in COVID-19.

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

---

---

### SCJS-3 歯周病原細菌による生体バリア破綻と血管修復障害

---

○多田 浩之

東北大 院歯 口腔分子制御

歯周病は世界の人口の約 50%が罹患する感染症である。歯周病に罹ると歯を支える歯周組織は不可逆的に破壊され歯の喪失に至るが、歯周組織が破壊される最大の要因は、歯周病原細菌の感染によりもたらされる慢性炎症である。口腔粘膜は上皮からなる物理的バリア、免疫細胞による生物学的バリアおよび抗菌性物質による化学的バリアからなるダイナミックな生体バリアにより恒常性を維持する。しかしながら、歯周病原細菌の感染がもたらす慢性炎症は生体バリアの巧妙なバランスを破綻させ、口腔のみならず糖尿病、関節リウマチ、心血管疾患やアルツハイマー病など全身臓器の疾患に影響を及ぼす。我々はこれまでに、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* の感染による自然免疫応答がもたらす慢性炎症と生体バリア破綻の研究に取り組んできた。

歯周病は歯周ポケットの出血が特徴である。*P. gingivalis* は生存のためプロテアーゼであるジンジパインで赤血球を破壊し鉄分を摂取するため、歯周ポケットから出血が続くことは本菌の増殖を促進させ歯周病の悪化につながる。血管の内腔は血管内皮細胞で裏打ちされており、血管が破れた際に血栓形成や血管内皮細胞の細胞遊走により血管は修復される。線維素溶解反応を調節する plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) は、プラスミノゲンアクティベーターの阻害や血管内皮細胞の細胞遊走を担い、止血や血栓形成に重要な役割を担う。我々はジンジパインが PAI-1 を分解し、血管内皮細胞の細胞遊走を遅延させることを見出した。本シンポジウムでは、歯周病原細菌の感染による自然免疫応答がもたらす慢性炎症と生体バリア破綻が、血管を介して口腔と全身の健康に及ぼす影響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。

---

### Periodontal pathogenic bacteria causing barrier dysfunction and impaired vascular repair

---

○ Tada H

Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Periodontal disease leads to irreversible destruction of tooth-supporting periodontal tissues, resulting in tooth loss. The destruction of periodontal tissue is caused by chronic inflammation due to infection with periodontal pathogenic bacteria. The oral mucosa is composed of physical, biological, and chemical barriers that maintain homeostasis. However, chronic inflammation caused by periodontal pathogenic bacteria break down the biological barrier and affect not only the oral mucosa but also diseases of the systemic organs, such as diabetes, rheumatoid arthritis, cardiovascular diseases, and Alzheimer's disease. We have previously demonstrated that the innate immune response induced by the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* results in chronic inflammation and dysfunction of the biological barrier. Periodontal disease causes bleeding from periodontal pockets, and *P. gingivalis* degrades host proteins with a protease, gingipain, for survival. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), which regulates the fibrinogen activation system, plays an important role in hemostasis and thrombogenesis by inhibiting plasminogen activator and endothelial cell migration. We found that gingipain degrades PAI-1 and delays the migration of endothelial cells. In this symposium, I would like to focus the impact of chronic inflammation and dysfunction of biological barriers caused by periodontal pathogenic bacteria on oral and systemic health via blood vessels.

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

---

---

## SCJS-4 血管ネットワークとその形づくり

---

○久保田義顕

慶應大 医 解剖

血管は、酸素および栄養の全身への供給のパイプラインという、生命維持のために必須の役割を果たす。個体発生においてこの血管ネットワークが張り巡らされる過程は、極めて秩序だったプロセスを以て進行する。教科書的にこの過程は、①脈管形成、②血管新生、③リモデリングという3つの素過程に分け、説明される。この3つの過程の全てにおいて中心的な役割を果たすのが血管内皮成長因子（VEGF）のシグナルであることはよく知られている。しかしながら、臓器によって異なる血管パターンニングの多様性がいかにして獲得されるかは、この3つのステップだけでは説明できない。このプロセスは各臓器の機能の発揮のために重要な生物学的システムであり、生命維持の観点からもそのメカニズムの解明は欠かせない。本講演では、血管が伸びる際の細胞の挙動から血管内皮細胞の多様性と可塑性、そして周囲の細胞との細胞間相互作用による臓器特異的血管パターンニングの構築過程に関し、最新の知見を踏まえ議論したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Cell-to-cell communication governing organotypic vasculature

---

○Kubota Y

Dept Anat, Keio Univ Sch Med

In vertebrates, the vascular network develops throughout the body to meet the demand of oxygen and nutrients in tissues, and to secrete organotypic paracrine molecules, known as angiocrine factors, driving cell differentiation and tissue morphogenesis. Recent advances in the imaging technique and single cell transcriptomics comprehensively uncovered the vascular cell heterogeneity ensuring the functional diversity of organotypic vasculature. In this presentation I would like to discuss our latest findings regarding the cellular and molecular basis of cell-to-cell communication regulating angiogenesis in particular skeletal and nervous tissues.

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

---

---

## AD-1 COVID-19 の病態に関与する特異な T・B 細胞サブセット

---

○金子 直樹<sup>1,2</sup>, 森山 雅文<sup>2,3</sup>, 前原 隆<sup>2</sup>, 中村 誠司<sup>2</sup>, Shiv Pillai<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ragon Institute of MGH, MIT and Harvard, Cambridge, MA, USA

<sup>2</sup>九大 院歯 口腔顎顔面病態 顎顔面腫瘍制御, <sup>3</sup>九大 院歯 OBT 研究セ

---

2019 年に初めて報告されて以来, 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) のパンデミックは未だ衰える様子を見せず, 世界各地で新規感染者が報告されています. パンデミックが沈静化しない要因の一つとして, SARS-CoV2 の感染が適切な免疫反応を惹起しない可能性が挙げられています.

私達はこれまでの研究で, 特に重症 COVID-19 では, 免疫反応の重要な場である二次リンパ器官において, 抗体産生に必要な微小構造である胚中心が, 欠損することを明らかにしました. また, 病態の中心となる肺においても, 特に重症例では適切な免疫反応が誘導されず, 通常認められない特異な T 細胞や B 細胞が増加することを明らかにしました.

本講演では, COVID-19 において増加する特異な T 細胞と B 細胞について, 他疾患での報告も交えながら, その病態との関連について考えます.

【利益相反】なし

---

## Specific T cell and B cell subsets in COVID-19

---

○ Kaneko N<sup>1,2</sup>, Moriyama M<sup>2,3</sup>, Maehara T<sup>2</sup>, Nakamura S<sup>2</sup>, Pillai S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ragon Inst MGH, MIT and Harvard, Cambridge, MA, USA

<sup>2</sup>Sect Oral Maxillofac Oncol, Div Maxillofac Diagnos Surg Sci, Fac Dent Sci, Kyushu Univ

<sup>3</sup>OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ

---

Despite the rapid spread of vaccines, COVID-19 is still rampant around the world. One of the reasons is that SARS-CoV2 infection does not elicit an appropriate humoral immune response and often lacks durability in humans. It is well known that proper immune memory is not induced, especially in natural infections. We demonstrate an unexpected paucity of germinal center and germinal center-related T cells and B cells in the lymphoid organs in acute COVID-19. Considering that germinal center is involved in the production of high-quality antibodies, these phenomena may explain the mechanism of limited durability against COVID-19. Furthermore, acute COVID-19 is also linked to the expansions of specific T cell and B cell. These specific immune responses in COVID-19 may be one reason why the COVID-19 pandemic has not come to an end.

**Conflict of Interest:** none

---



---

## AD-2 新規骨髄骨格幹細胞発見への挑戦 —コロナ禍における研究ストラテジー—

---

○松下 祐樹

長大 院医歯薬 口腔腫瘍治療

---

新型コロナウイルス COVID-19 が世界中へ広がって以降 2 年以上が経過し、少しずつコロナ禍以前の生活を取り戻すと同時に、オンラインを活用した新しい生活様式が浸透しつつある。発表者は 2015 年 12 月から 2022 年 7 月まで米国に在住し、米国でのコロナ禍を経験した。さまざまな施設で、研究室、施設自体の完全閉鎖という話も耳にする中で、発表者の所属していたミシガン大学でも同様に一定の制限が課され、研究活動への影響が生じた。

ただ、コロナ禍によって失ったことばかりではない。コラボレーターである情報科学分野の研究グループとはコロナ禍以降、週 1 回のオンラインミーティングとともにビジネスチャットを即座に立ち上げ、コロナ禍以前よりも綿密かつ気軽なディスカッションを行うことができるようになった。特に近年のシングルセル解析アルゴリズムの発展とともに、解析の複雑性は増し、生物科学研究者と情報科学研究者が互いの領域を理解した上での深いレベルでのコラボレーションは必須とも言える。今回、シングルセル RNA-seq, ATAC-seq を併用することで骨髄における新規骨格幹細胞を推定するまでに至った。

また、オンラインミーティングツールの普及に伴い、国内や海外に留学中の若手歯科系研究者を繋ぎ、定期的なオンラインミーティングをスタートさせ、歯科系研究者の交流、歯学研究の活性化を目的に、試行錯誤しながら現在進行形で進めている。本発表では米国でコロナ禍を過ごした中での研究生生活の実態や取り組みを研究内容とともに紹介させていただく。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Challenge for the discovery of a new type of bone marrow skeletal stem cells

---

○Matsushita Y

Dept Cell Biol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

---

More than two years have passed since the COVID-19 spread throughout the world. We are getting back to the before-COVID-19 lifestyle and the new lifestyle utilizing online prevalent. This COVID-19 situation brought not only negative but also positive aspects. We started utilizing an online meeting and a business chat tool with the collaborators in computer science immediately after the ramp-down of the institute. Since current single-cell biology has become more complex, biologists and computer scientists need deep collaboration to unveil novel biology. Currently, we identified a new type of putative stem cells by integrating single-cell RNA- and ATAC-seq analyses. This presentation will introduce my research life under the COVID-19 situation and a new type of bone marrow skeletal stem cells.

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

---

---

### AD-3 胎盤情報伝達の基盤解明と臨床応用をめざす国際共同研究

---

○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ことが必要である。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 DNA 脱メチル化とヒストンメチル化による複合的なエピジェネティクス改変を誘導することで、肝臓における糖代謝能を向上させていた。運動のもつ最大の利点は平易で安価な実践的予防方策として提示できることにある。一方で母体環境の影響が子の代謝フェノタイプとして表出するまでには長い時間がかかる。そのため動物モデル研究とヒト臨床研究を組み合わせ、メカニズムの解明と実際的な解決法の提案を同時進行する戦略が求められる。本演題では、母体から子への次世代情報伝播をどのように実践的に解析するか、ウィズコロナの観点から演者の取り組みを紹介したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### International collaboration to establish the fundamental mechanism and clinical application of placental medicine

---

○Kusuyama J

FRIS, Tohoku Univ

---

Maternal obesity and type 2 diabetes increase the risk of metabolic diseases in offspring, even though the children lead healthy lifestyles. We found that exercise during pregnancy improves the metabolic health of offspring. Our studies demonstrated that the benefits of maternal exercise in offspring are mediated by superoxide dismutase 3 (SOD3), a novel placenta-derived bioactive substance (placentokine). SOD3 improves glucose metabolism in offspring liver by DNA demethylation and histone methylation of fetal hepatoblasts. The greatest advantage of exercise is easy, inexpensive, and practical as a preventive means. On the other hand, it takes a long time to analyze the effects of maternal environments on offspring phenotypes. Therefore, a strategical combination of animal model studies and human clinical studies is essential to elucidate the molecular mechanisms and propose practical solutions. This presentation introduces my challenge of how practically analyzing the transmission of placental information from mother to child under with corona situation.

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

---

---

## AD-4 コロナ禍アメリカでの食べ物の匂い嗜好性研究

---

○堀尾 奈央<sup>1</sup>, Stephen Liberles<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Harvard Medical School, Department of Cell Biology, <sup>2</sup>Howard Hughes Medical Institute

---

所属学部のピザ付きランチオンセミナーに、毎回多くの方が行列を作って参加している。もちろんセミナーを聞きに来る、というのが主目的だろうが、お昼ご飯時間帯に「ピザの匂い」に魅かれて列に並んでしまう人も一定数いるのではないのだろうか。このように、空腹時、「食べ物の匂い」に魅力を感じる経験は誰もが持っているのではないだろうか。では、この現象は科学的に正しいのだろうか。正しいのだとしたら、そのメカニズムはなんだろうか。

本研究ではマウスを用い、空腹時に食べ物の匂いの嗜好性が向上するメカニズムを解明した。具体的には、食べ物の匂い、フェロモンという、満腹時にやや嗜好性を示す2つの匂いを用いて行動実験を行い、空腹マウスではフェロモンに匂いに比べて、食べ物の匂いを特異的に強く好むことが明らかにした。この現象の脳内メカニズムを調べるため、空腹を感じるのに必要十分である脳内視床下部弓状核のアグーチ関連ペプチド (AGRP) ニューロンに着目した。満腹マウスのAGRPニューロンを光刺激すると、満腹にもかかわらずエサを食べ、そしてエサの匂いも好んだ。AGRPニューロンは脳内複数箇所に軸索を伸ばしているが、それぞれの部位の軸索光刺激により、paraventricular thalamus (PVT) という部位への軸索がこの嗜好性向上に関与していることがわかった。さらに、ノックアウトマウスを用いた解析により、AGRPニューロンが分泌する神経伝達物質のうち、neuropeptide Y (NPY) と、その受容体 NPY5R が行動に関与していることが明らかとなった。これらの結果により、空腹という体内状況がどのように行動を変えているのかという謎の一端が解明された。

2020年3月の新型コロナによる3ヶ月間の大学閉鎖の直前から本研究の論文のリバイス実験を行っていた。本発表では、コロナ禍でどのようにリバイス実験を進め、論文化にこぎつけたかの経験談も含めてお話をさせていただきたい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Study about food odor preference in the U.S. during COVID-2019 lockdown

---

○Horio N<sup>1</sup>, Liberles S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Harvard Med Sch, Dept Cell Biol, <sup>2</sup>Howard Hughes Med Inst

---

We often feel attracted to food odor such as pizza odor when we are hungry. To know if this phenotype is scientifically true or not and the neural mechanism, we did the 2 choice odor preference test in mice with food odor and pheromone that are a little attractive in fed mice. We revealed that fasted mice preferred food odor to pheromone. To know the neural mechanism, we focused on the hypothalamic agouti-related peptide (AGRP) neurons in the arcuate that are related to hunger in the brain. When we activated AGRP neurons in fed mice, mice ate food and preferred food odor. Then when we activated one of the axon regions of AGRP neurons; the paraventricular thalamus (PVT), fed mice preferred food odor. Mice that lack neuropeptide Y (NPY) or NPY receptor type 5 (NPY5R) failed to prefer food odors over pheromones. These findings provided one of the mechanistic insights into how the internal state regulates behavior.

We did these experiments during the COVID-2019 lockdown. I will talk about not only the research itself, but also my experience related to the COVID-2019 lockdown in the U.S.

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

---

---

## US1-1 下顎の発生過程において石灰化組織吸収に寄与する細胞

---

○中村 恵, Mu-Chen Yang, 笹野 泰之

東北大 院歯 顎口腔組織発生

---

顎骨発生に関する報告の多くは骨形成に焦点を置いたものであり、骨吸収に着目した研究は少なく、骨吸収を担う破骨細胞の出現時期や発生期における役割については不明である。そこで我々は、マウスの下顎を用いて骨発生過程を経時的に観察し、石灰化の進行と破骨細胞の出現にどのような関連があるのかを調べた。石灰化した骨を検知するために Von Kossa 染色を、破骨細胞の有無を調べるために酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRAP) 染色とカテプシン K の免疫染色を行い検討した結果、下顎骨が石灰化する前に TRAP 陽性細胞が出現し、石灰化の開始と同時期に TRAP 陽性かつカテプシン K 陽性の破骨細胞が出現し、骨を吸収することが示唆された。

さらに、正常な下顎骨発生に不可欠であるメッケル軟骨の石灰化と吸収についても検討した。メッケル軟骨は大部分が生後間もなく消失してしまうが、その分解メカニズムは解明されていない。そこで、メッケル軟骨の石灰化と破軟骨細胞の出現時期を調べるために、Von Kossa 染色と TRAP 染色を用いてマウスの下顎発生過程を組織化学的に検討した。また、走査型電子顕微鏡/エネルギー分散型 X 線分光法 (SEM/EDS) を用いてカルシウム、リン、炭素濃度を測定し、メッケル軟骨と周囲骨のミネラル濃度について検討を行った。その結果、石灰化したメッケル軟骨の吸収に破軟骨細胞が関与しており、石灰化したメッケル軟骨のミネラル濃度は周囲骨と同程度であることが示された。

本シンポジウムでは、下顎発生過程に現れる石灰化組織吸収に寄与するこれらの細胞についての知見を紹介するとともに、発生過程における破骨細胞・破軟骨細胞の役割について考察したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Cells responsible for resorption of calcified tissues during mandibular development

---

○ Nakamura M, Yang MC, Sasano Y

Div Craniofac Dev Tissue Biol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

Few studies have focused on bone resorption, and it has remained unclear when bone-resorbing osteoclasts appear and how they work during bone development. We performed Von Kossa staining to determine when bone calcification begins and examined tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) activity and cathepsin K immunoreactivity to identify the presence of osteoclasts during mouse mandibular development. Our results revealed that TRAP-positive cells appear prior to bone calcification, and TRAP- and cathepsin K-positive osteoclasts appear at the same time as the initiation of bone calcification.

Calcification and resorption of Meckel's cartilage during the mouse mandibular development were also examined because the degradation mechanism of Meckel's cartilage has not been elucidated. We examined the calcification of Meckel's cartilage with Von Kossa staining, the appearance of chondroclasts with TRAP staining, and the element concentrations of calcium, phosphorus, and carbon in Meckel's cartilage and the surrounding bone with scanning electron microscopy/energy-dispersive X-ray spectroscopy. The results demonstrated that chondroclasts are involved in the resorption of calcified Meckel's cartilage and that the mineral concentration of calcified Meckel's cartilage is comparable to the surrounding bone.

In this symposium, we would like to share our new findings and discuss the role of osteoclasts and chondroclasts during mandibular development.

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

---



---

## US1-2 破骨細胞の分化・機能に対する RANKL/Siglec-15 の作用について

---

○長谷川智香<sup>1</sup>, 山本知真也<sup>1,2</sup>, 本郷 裕美<sup>1</sup>, 宮本 幸奈<sup>1</sup>, 宗山 昂史<sup>1</sup>, 福田 千恵<sup>3</sup>, 津田 英資<sup>3</sup>, 網塚 憲生<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北大 院歯 硬組織発生, <sup>2</sup>陸自 北部方面隊, <sup>3</sup>第一三共(株)スペシャルティ第一研

---

破骨細胞の分化誘導には, M-CSF および RANK/RANKL シグナルに加えて, ITAM モチーフを有する膜アダプター分子 DAP12/FcR $\gamma$  と会合する受容体からのシグナルを必要とする. 近年, シアロ糖鎖結合タンパクである Siglec-15 が<sup>3</sup>, DAP12 の共受容体として破骨細胞の最終分化に関与することが報告されている. 我々の研究室では, RANKL ならびに Siglec-15 を機能抑制した場合における破骨細胞の分化や骨吸収能について組織学的・微細構造学的に検索を進めてきた. その結果, *Rankl* 遺伝子欠損マウスでは, 成熟破骨細胞は認められないものの, 2~3 個の核を有し石灰化基質の取り込みを行う破骨細胞様細胞が観察され, RANKL 非存在下においても, 破骨細胞分化はある程度の段階まで進行すると考えられた. 一方, Siglec-15 抗体を投与したラットの長管骨では, 骨リモデリングが行われる二次骨梁領域に存在する破骨細胞の小型・扁平化や数の減少, cathepsin K 陽性反応の低下や波状縁の発達不良などが認められ, 破骨細胞の骨吸収能が低下している可能性が示唆された. ところが, 骨成長に寄与する一次骨梁領域の破骨細胞にこのような異常は認められず, 同部位では Siglec-15 非依存的な経路で破骨細胞分化が生じることが推測される. 本シンポジウムでは, 破骨細胞の分化やその機能における RANKL ならびに Siglec-15 の作用について, 我々の組織学的・微細構造学的知見を中心にご紹介したい.

**【利益相反】** 筆者は第一三共株式会社の共同研究者, および第一三共株式会社の従業員であり, 利益相反状態にあります.

---

## Biological function of RANKL and Siglec-15 on osteoclast differentiation and function

---

○Hasegawa T<sup>1</sup>, Yamamoto T<sup>1,2</sup>, Hongo H<sup>1</sup>, Miyamoto Y<sup>1</sup>, Muneyama T<sup>1</sup>, Fukuda C<sup>3</sup>, Tsuda E<sup>3</sup>, Amizuka N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Deve Biol Hard Tissue, Fac Dent Med, Hokkaido Univ, <sup>2</sup>JGSDF Nort Nort Army Med Ser, <sup>3</sup>Spe Med Res Lab I, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

---

Osteoclast differentiation requires not only M-CSF and RANK/RANKL signaling, but also the signaling from the receptors associated with DAP12 and FcR $\gamma$  which are membrane adaptor molecules with ITAM motifs. Recently, Siglec-15, a sialic acid-binding protein, has been reported to contribute to the terminal differentiation of osteoclasts as a co-receptor of DAP12. In our previous reports, we have histologically examined osteoclast differentiation and its function in the absence of RANKL and Siglec-15. *Rankl* deficient mice showed the presence of multinucleated osteoclast-like cells, which may have acquired the ability to resorb mineralized matrices in bone. These findings suggested that osteoclast differentiation may progress to a certain stage even in the absence of RANKL. In rats treated with the anti-Siglec-15 antibody, osteoclasts were reduced in size and number in the secondary trabeculae, but not in the primary trabeculae. Furthermore, these abnormal osteoclasts showed weak immunoreactivity of cathepsin K, as well as poor development of the ruffled borders, suggesting the suppression of bone resorption. It is postulated that osteoclasts in the primary trabeculae could fully-differentiate and resorb bone matrix independent of Siglec-15 signaling. In this symposium, we will show our findings on the biological function of RANKL and Siglec-15 to osteoclast differentiation and its function.

**Conflict of Interest:** Chie Fukuda and Eisuke Tsuda are employees of Daiichi Sankyo Co., Ltd. Other authors have an association with Daiichi Sankyo Co., Ltd.

---



---

## US1-3 表皮型脂肪酸結合タンパク (E-FABP/FABP5) を発現する非石灰化軟骨吸収細胞 septoclast

---

○坂東 康彦<sup>1</sup>, 小野澤 豪<sup>1,2</sup>, 長坂 新<sup>1</sup>, 崎山 浩司<sup>3</sup>, 天野 修<sup>1</sup>

<sup>1</sup>明海大 歯 組織, <sup>2</sup>明海大 歯 口腔顎顔面外科, <sup>3</sup>明海大 歯 解剖

---

Septoclast (セプトクラスト) は長管骨骨端板の骨軟骨境界部で発育性の毛細血管に隣接し, 非石灰化軟骨の吸収に関与する単核紡錘形の細胞である. 我々は, septoclast がマウス脛骨骨端板骨軟骨境界部で表皮型脂肪酸結合タンパク (E-FABP, FABP5) を特異的に発現すること, E-FABP が septoclast において長鎖脂肪酸やレチノイン酸の細胞質内輸送に関与して脂肪酸代謝やレチノイン酸シグナル伝達に関与することを明らかにしてきた.

Septoclast は cathepsin B や MMP-13 などの有機質分解酵素を発現し, 長い突起を骨端板の石灰化軟骨基質である横隔に伸ばし, その吸収に関与すると考えられている. Septoclast の横隔吸収に続き, 石灰化縦隔が破骨細胞により吸収される.

レチノイン酸過剰摂取マウスやビタミン A 欠乏マウスなどの骨端版に異常をきたすマウスでは横隔に到達しない短縮した突起をもつ septoclast がみられ, septoclast の形態は軟骨吸収を反映すると考えられる. また, FABP5 欠損マウスの septoclast は突起が短小化して軟骨吸収能の低下が示唆されたが, 正常な突起形態を持つ脂肪細胞型 FABP (A-FABP, FABP4) 陽性 septoclast が増加して代償する.

発生過程において E-FABP 陽性 septoclast はマウス脛骨原基軟骨中央部の軟骨膜付近に出現し, PDGFR $\beta$  と NG2 を発現し, pericyte (周皮細胞) から分化する. また, 軟骨内骨化の過程で非石灰化軟骨を吸収し, 軟骨原基への血管侵入と一次骨化中心形成に関与する.

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する.

---

## Septoclasts, uncalcified cartilage resorptive cells, expressing epidermal fatty acid-binding protein (E-FABP/FABP5)

---

○Bando Y<sup>1</sup>, Onozawa G<sup>1,2</sup>, Nagasaka A<sup>1</sup>, Sakiyama K<sup>3</sup>, Amano O<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Histol Meikai Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Oral Maxillofac Surg Meikai Univ Sch Dent, <sup>3</sup>Div Anat Meikai Univ Sch Dent

---

Septoclasts are mononuclear spindle-shaped cells located at the chondro-osseous junction (COJ) of the growth plate (GP) with several processes extending to the uncalcified transverse septum. Septoclasts express cathepsin B and MMP-13 to resorb the uncalcified matrix of the GP. After resorption of the transverse septa by septoclasts, calcified longitudinal septa are degraded and resorbed by osteoclasts. We observed that epidermal fatty acid-binding protein (E-FABP/FABP5) is exclusively expressed in the septoclasts at the COJ of the GP. E-FABP expressed in septoclasts is involved in both long-chain fatty acids (LCFAs) metabolism and retinoic acid (RA) signaling as an intracellular transporter of both LCFAs and RA. Shortened cytoplasmic processes of septoclasts are associated with the downregulation of their cartilage resorptive activity under E-FABP deficiency or excess or deficiency of RA. In ontogeny, septoclasts are differentiated from the pericytes and involved in the blood vessel invasion to the cartilaginous templates and formation of primary ossification center in endochondral ossification.

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

---

---

## US2-1 光学計測法が明らかにする大脳皮質の口腔感覚情報処理部位

---

○藤田 智史

日大 歯 生物

---

咬合咀嚼において口腔内の感覚情報、特に歯や筋肉の筋紡錘からの情報は重要な役割を果たしている。末梢から運ばれる感覚情報は大脳皮質の体性感覚野において処理され、身体各領域の位置関係が体性感覚野内に再現されている。本研究では、ラットの咬筋中の筋紡錘からの固有感覚が大脳皮質のどこで再現されているのかについて、膜電位感受性色素を用いた光学計測法で検討を行った。下顎をけん引し、開口させると、一次体性感覚野（S1）および二次体性感覚野の腹側部と島皮質の境界領域（S2/IOR）の2か所から広がる大脳皮質の興奮が認められた。また、咬筋の固有感覚情報および侵害受容情報を中枢に送る咬筋神経を電気刺激すると、けん引による開口時の興奮領域に加えて、S2/IORの興奮領域は吻側方向に拡大した。これらのことから開口時、咬筋神経刺激時の興奮が重なる領域で咬筋の筋紡錘の情報処理が行われていることが示唆された。

体表の体性感覚情報はS1およびS2領域で処理され、その位置関係はミラー像を呈していることが知られている。しかしながら、口腔内ではS1とS2/IORの間で同様の配列様式となっているかについては明らかとなっていない。そこで本研究では、下唇、舌、上下顎の門歯、臼歯からの情報処理部位がS1、S2/IORにおいてどのような配列様式となっているのかを膜電位感受性色素を用いた光学計測法で検討した。その結果、体表の体性感覚情報とは異なり、口腔内の感覚情報処理部位の位置関係はS1とS2/IORの間ではミラー像となっておらず、独特な配列様式を有していることが示唆された。

本発表では口腔内の感覚情報が大脳皮質のどこで処理されているのかの特徴について紹介し、続く演題での話題に繋げたい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Investigation of cortical areas processing the information from orofacial regions by an optical imaging technique

---

○Fujita S

Dept Biol, Nihon Univ Sch Dent

---

Sensory information in the oral region plays a critical role in mastication. The somatosensory information from peripheral structures is conveyed to the somatosensory cortical areas with a topographic map corresponding to the body structures. In this study, the regions that process proprioception of muscle spindles in the masseter were explored by *in vivo* optical imaging with a voltage-sensitive dye in rats. Jaw opening and masseter nerve stimulation induced excitatory propagation from two regions: the primary somatosensory cortex (S1) and the border between the secondary somatosensory cortex (S2) and the insular oral region (IOR). It is known that the representation of the body surface in the S1 forms a mirror image in the S2. In addition to the masseter, the relationship between somatosensory representations of oral structures, including the lower lip, tongue, and teeth, in the S1 and S2/IOR was examined. The results suggest that the representation of oral structures in the S1 formed a non-mirror image in the S2/IOR, which is different from the characteristic of the body surface.

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

---

---

## US2-2 咀嚼筋感覚の高次脳への投射とその機能

---

○堤 友美<sup>1</sup>, 佐藤 文彦<sup>1</sup>, 古田 貴寛<sup>1</sup>, 橘 吉寿<sup>2</sup>, 吉田 篤<sup>1</sup>

<sup>1</sup>阪大 院歯 口腔解剖 2, <sup>2</sup>神戸大 院医 生理

---

咀嚼は生命維持に必要不可欠であり、顎反射は咀嚼筋に生じる筋紡錘感覚（以下咀嚼筋感覚とする）情報に従って制御されている。しかし、咀嚼筋感覚が高次脳で担っている機能は不明である。そこで咀嚼筋感覚が入力する高次脳部位を解明するため、ラットで、神経回路トレーサーの脳内注入法と電気生理学的記録法を併用した。咀嚼筋感覚の脳への上行路と咀嚼筋感覚が入力する脳から下位脳幹への下行路を含む出力経路を明らかにした。1) 咀嚼筋感覚は、橋の三叉神経上核 (Su5) から、視床後内側腹側核 (VPM) の尾腹内側縁 (VPMcvm) に伝達された後、これまで予想されてきた大脳皮質体性感覚野ではなく、情動や自律機能に関与する顆粒性島皮質 (GI) の背側部 (dGIRvs2) に限局して伝達された。2) 脳への第二の上行路として、Su5 から、視床髄板内核群の oval paracentral nucleus (OPC) を経由し、大脳皮質一次・二次体性感覚野 (S1, S2) および第一の上行路が達した dGIRvs2 を含む GI へ広く伝達された。3) 咀嚼筋感覚が第一、二の上行路を介して重複して入力した dGIRvs2 は、上行路を中継する Su5, VPMcvm, OPC に投射してフィードバック回路を形成し、さらに三叉神経運動核に投射する運動前ニューロンが存在する三叉神経脊髄路核吻側垂核や、情動に関与する扁桃体にも投射した。予想に反して、線条体、淡蒼球外節、黒質などの運動機能に関わる上位脳部位への投射は弱かった。以上の咀嚼筋感覚の高次脳への投射経路から、咀嚼筋感覚が顎反射を含む顎運動だけでなく、情動や自律機能に関与することが新たに見えてきた。

**【利益相反】** 演者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Higher brain projection and function of the proprioception arising from the jaw-closing muscle spindles

---

○Tsutsumi Y<sup>1</sup>, Sato F<sup>1</sup>, Furuta T<sup>1</sup>, Tachibana Y<sup>2</sup>, Yoshida A<sup>1</sup>

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

---

Masticatory reflexes are regulated by the proprioception arising from the jaw-closing muscle spindles (JCMSs). However, the roles of the JCMS proprioception in the higher brain have been unclear. To address this issue, we performed neural tracer injections and electrophysiological recordings in rats. 1) Through the main pathway to the cerebral cortex, JCMS proprioception was conveyed to the dorsal part (dGIRvs2) of granular insular cortex (GI) involving emotional and autonomic functions via the supratrigeminal nucleus (Su5) and, then, the caudo-ventromedial edge of ventral posteromedial thalamic nucleus (VPMcvm). 2) Through the second pathway, JCMS proprioception was also transmitted broadly to the somatosensory cortices and GI including the dGIRvs2 via the Su5 and, then, the oval paracentral nucleus (OPC) in the intralaminar thalamic nuclei. 3) The dGIRvs2 made feedback connections with the VPMcvm, OPC and Su5, and also projected to the pontomedullary regions containing premotoneurons for the trigeminal motor nucleus and to the amygdala involving emotion. Contrary to our expectations, the dGIRvs2 projected only weakly to the motor brain regions such as the striatum, lateral globus pallidus and substantia nigra. Consequently, we obtained a new viewpoint that JCMS proprioception is involved not only in masticatory movements but also in emotional and autonomic functions.

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

---

---

### US2-3 顎運動制御におけるセロトニン神経系の役割

---

○壇辻 昌典, 中村 史朗, 中山希世美, 望月 文子, 井上 富雄  
昭大 歯 口腔生理

咀嚼は食物からのエネルギー摂取の効率を上げ、生命維持に重要な役割を果たす。セロトニン神経系は、咀嚼を含めた呼吸や歩行などのリズムカルな運動で活動が増大し、様々な運動機能に関与することが報告されている。しかしセロトニン神経系が咀嚼運動にどのように関与するか詳細は不明である。我々はこれまでラット脳幹スライス標本を用い、レーザー光の照射によるグルタミン酸解離によって閉口筋運動ニューロンの樹状突起に誘発されたシナプス応答に対して、セロトニン (5-HT) の影響を解析した。その結果、5-HT は 5-HT<sub>2A</sub> 受容体を介して、グルタミン酸受容体の一種である NMDA 受容体の機能を増強することが明らかになった。さらに NMDA 受容体を構成する GluN2A サブユニットが 5-HT<sub>2A</sub> 受容体の活性化に続く Src キナーゼの活性化を介してリン酸化されることで、NMDA 受容体機能の増強が起こることを明らかにした。次に、光遺伝学的手法を用いて、セロトニン神経の活動を制御し、咀嚼時の咬筋活動への 5-HT の影響を検討した。セロトニン神経特異的に Channelrhodopsin-2 (ChR2) を発現させたマウスの背側縫線核に光ファイバーを刺入した。咀嚼時の青色光刺激による ChR2 の活性化によってリズムカルな咀嚼サイクルの頻度は上昇し、咬筋筋電図波形の最大振幅の平均値は減少した。さらに咀嚼中の ChR2 の活性化で、餌を齧り取った後、次に餌を齧り取るまでの間に行われるリズムカルな顎運動の持続時間が延長した。これらの結果より、セロトニン神経系は閉口筋運動ニューロンに対する興奮性シナプス入力を増強するだけでなく、リズムカルな顎運動パターンを形成する神経回路の活動に影響する可能性がある。

**【利益相反】** 開示すべき利益相反状態はありません。

---

### The role of serotonergic system in jaw movement control

---

○Dantsuji M, Nakamura S, Nakayama K, Mochizuki A, Inoue T  
Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent

Mastication contributes to an increase in the efficiency of energy intake from food, which is important for preserving the general health. The serotonergic system plays important roles in rhythmic behaviors, such as respiration and locomotion, as well as mastication; however, whether the serotonergic system is critical for control of mastication remains unknown. We examined the effects of serotonin (5-HT) on glutamate responses in the dendrites of masseter motoneurons (MMN) evoked by laser uncaging of caged glutamate. 5-HT augments glutamatergic signaling by enhancing the function of the GluN2A-containing NMDA receptor through the activation of 5-HT<sub>2A</sub> receptors and Src kinase. Next, we investigated the effects of 5-HT on the masseter muscle activity during voluntary mastication in the mice using optogenetic stimulation. We obtained transgenic mice expressing channelrhodopsin-2 (ChR2) mutant only in central serotonergic neurons. An optical fiber was inserted to the dorsal raphe nucleus (DRN). Optogenetic activation of serotonergic neurons in the DRN during voluntary mastication significantly increased the frequency of masticatory rhythm, decreased the mean peak amplitude of the masseter EMG activity and extended the sequence of rhythmic jaw movements following a single food intake. The serotonergic system may not only enhance the glutamatergic motor command onto MMN but also may affect the neuronal circuit that produces the motor command of the rhythmic jaw movements during mastication.

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

---



---

## US2-4 三叉神経中脳路核の特異性から読み取る、咬合・咀嚼と脳機能の関係について

---

○後藤 哲哉, 倉本恵梨子

鹿大 院医歯 機能形態

---

解剖・生理学の分野の研究は、神経系に関するものが圧倒的に多い。我々の研究も、当初は骨代謝から始まって、細胞接着や再生に関する研究を進めてきたが、結局神経系の研究にたどり着いてしまった。奇しくも、現在は超高齢化社会となり、歯科の研究も昔の齲蝕に関するものから高齢者にシフトしてきて、口腔機能低下症や認知症への関心も高まっている。認知症に関する脳研究は医科ではかなり進んでいるが、認知症の原因や治療薬に関する研究はまだ不明な点が多い。そこで、医科の基礎研究がまだアプローチしていない、歯科に関する分野に何か認知症に関する鍵が隠されているのではと考えられた。

認知症のうち、特にアルツハイマー病(AD)については、アミロイド $\beta$ (A $\beta$ )からなる老人斑の出現、過剰なリン酸化タウ蓄積による神経原線維の形成、それに伴う大脳皮質と海馬における神経脱落による認知機能の低下、初期の病変が青斑核に生じ、AD患者では青斑核の脱落が顕著なこと、そして最も高いリスクファクターが加齢であることが認められている。さらに、口腔での歯周病と残存歯数がADの発症と関連が高いことが臨床研究では報告されている。これらを全て満たすAD発症のメカニズムを考えた時、その接点に存在する三叉神経中脳路核の関与が考えられた。三叉神経中脳路核は咬合・咀嚼の点では多くの研究がなされてきたが、本シンポジウムではA $\beta$ の動態とオートファジーの視点から三叉神経中脳路核を見直し、咬合・咀嚼と脳機能との関連についての研究を紹介する。

**【利益相反】** 開示すべき利益相反状態はありません。

---

### The relationship between occlusion, mastication, and brain function as interpreted from the specificity of the trigeminal mesencephalic nucleus

---

○Goto T, Kuramoto E

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

---

With the super-aging society, dental research has gradually shifted to the elderly. In the field of medicine, considerable progress has been made in brain research on dementia, but the causes of dementia and the development of therapeutic drugs have not been progressed. Therefore, we wondered if the key to dementia might be hidden in the field of dentistry.

For dementia, especially Alzheimer's disease (AD), the appearance of senile plaques composed of amyloid- $\beta$  (A $\beta$ ) and excessive accumulation of phosphorylated tau have been observed. Neurodegeneration in the hippocampus results in cognitive decline, the earliest lesions occur in the locus coeruleus, and the greatest risk factor is aging. In addition to these factors, periodontal disease and the number of remaining teeth has been thought to be associated with the development of AD. When we considered the mechanism of AD onset that fulfills all these conditions, the involvement of the trigeminal mesencephalic nucleus (Vmes) was considered. Although there have been many studies on Vmes in terms of occlusion/mastication, we will review Vmes from the viewpoint of A $\beta$  dynamics and autophagy, and introduce the relationship between occlusion/mastication and brain function.

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

---

---

## US3-1 オーバービュー：歯学と骨免疫学

---

○塚崎 雅之

東京大 院医 免疫

骨免疫学は、免疫系と骨代謝系の相互連関や共通分子機構を探る学際領域として2000年に創生された。関節リウマチの病態研究を中心に医科領域で発展を遂げてきた学問だが、骨免疫学の黎明に歯学が果たした役割は大きい。また、多くの疾患に細菌・免疫・骨が関与する歯科臨床において、骨免疫学は欠かすことのできない概念である。本シンポジウムでは分子機能、オルガネラ構造、細胞の系譜と細胞間相互作用、硬組織発生、そして臓器連関といった、それぞれ異なる解像度で骨免疫研究に取り組む歯学系研究者にご講演いただき議論を深めることで、多階層的な視点から骨免疫学を捉えなおし、本領域の新たな展開と歯科基礎医学分野への貢献を目指したい。

**【利益相反】** なし

---

### Overview: Dentistry and Osteoimmunology

---

○Tsukasaki M

Dept Immunol Grad Sch Med Fac Med, The Univ Tokyo

Osteoimmunology was established in 2000 as an interdisciplinary field to explore the crosstalk and shared mechanisms between the immune and bone systems. Although this field has developed with research into the pathogenesis of rheumatoid arthritis, dentistry has played a significant role in the dawn of osteoimmunology. Reciprocally, osteoimmunology is an indispensable concept in clinical dentistry, where bone and immune systems are involved in most of diseases. This symposium will discuss current progress in osteoimmunology in the dentistry field from multiple perspectives including molecular function, organelle structure, cell lineage and cell-cell interaction, hard tissue development, and inter-organ crosstalk.

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

---

---

## US3-2 口腔老化幹細胞ニッチに着目した口腔老化メカニズム解明とその疾患治療法

---

○前川 知樹

新潟大 院医歯 高口セ

---

口腔は老化にともない柔軟性および再生能力が低下しオーラルフレイルを引き起こす。これら口腔老化に DEL-1 が強く関わっていることを示してきた。DEL-1 は、炎症の寛解および老化細胞の除去を促す機能を持つが、その発現は老化とともに減少し、老化細胞の蓄積と組織修復および再生に対する柔軟性が失われることが明らかになってきている。これらは可逆的な反応であり、老化した幹細胞ニッチに対して DEL-1 を再度発現させることで正常な修復・再生機能を取り戻すことが可能となる。本発表では、DEL-1 がなぜ老化によって減少するのか、また DEL-1 の標的細胞および産生細胞、そして生体内での老化に伴う幹細胞ニッチの変化に対する DEL-1 の機能を紹介する。また DEL-1 による加齢性疾患への治療法展開についても紹介したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Elucidation of oral aging mechanisms and development of aging-related oral disease treatments focusing on the senescent stem cell niche

---

○Maekawa T

Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

The aging of the oral cavity is accompanied by a loss of flexibility and regenerative capacity. Although DEL-1 promotes resolution of inflammation and removal of senescent cells, its expression declines with aging, and it has been shown to lose flexibility for tissue repair and regeneration. These are reversible responses, and re-expression of DEL-1 in the senescent stem cell niche can restore normal repair and regeneration. However, it is still unclear why DEL-1 is decreased by aging, and which cell induce DEL-1, and how DEL-1 functions in the stem cell niche during aging. In this session, I will discuss on the oral stem cell niche to elucidate the functions of the DEL-1. I will also present the effect of DEL-1 on bone formation and regeneration, the effect on proliferation and differentiation of osteoblast progenitor cells, and the relationship with mesenchymal stem cells (MSCs) using mice, human MSCs, and young and old mice.

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

---

---

### US3-3 最新の三次元画像解析から読み解く破骨細胞の真の姿

---

○細沼 雅弘<sup>1,2</sup>, 坂井 信裕<sup>2,3</sup>, 松島 英輝<sup>4</sup>, 高見 正道<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>昭大 臨床薬理研 臨床免疫腫瘍, <sup>2</sup>昭大 薬理科学研究セ, <sup>3</sup>昭大 歯 歯科薬理, <sup>4</sup>日本電子株式会社

---

破骨細胞の特徴の1つは、ニューロンや上皮細胞と同様に細胞極性 (cell polarity) を示すことであり、その細胞膜は波状縁という形態をとりながら骨吸収面側に偏在し、そこから放出されるプロトンとタンパク質分解酵素により骨基質を分解する。さらにアクチンフィラメントの重合体であるアクチンリングも骨吸収面にのみ形成され、骨に密着することで局所の酸性化を誘導し効率よく脱灰を行うと考えられてきた。

このような破骨細胞の内部構造は、これまで主に透過型電子顕微鏡による細胞の1段面のみを観察することで論じられてきた。しかし、細胞構造の空間的な偏りを明らかにするには、破骨細胞の外部および内部構造を三次元的に観測することが重要である。

我々は、光学顕微鏡と走査電子顕微鏡 (SEM) による同一試料の観察を可能にする「光-電子相関顕微鏡法 (CLEM)」と、収束イオンビームにより試料を数 nm の厚さで切削し、切削面の連続的な SEM 像を取得できる「Focused Ion Beam Scanning Electron Microscope (FIB-SEM)」を用いて破骨細胞の超微細立体構造の解明を試みた。

三次元構築した破骨細胞の画像をさまざまな角度から詳細に観測した結果、アクチンリングはカシューナッツ型の楕円を呈して遊走方向に局在した。その長径の半周は平らな未吸収の骨上に、短径の半周は吸収窩の斜面に沿って落ち込むように存在し、この部位に限定して脱灰が起きていることを明らかにした。また核の形態と細胞遊走方向の関連や、空胞にも細胞内に極性が存在していることなど、これまでに推測されていたことに加え多くの情報を得ることができた。

シンポジウムでは、破骨細胞の超微細三次元構造と骨吸収窩形成のメカニズムについて考察する。

【利益相反】なし

---

### Three-dimensional ultrastructural analysis of bone-resorbing osteoclasts suggested novel functions of osteoclasts

---

○Hosonuma M<sup>1,2</sup>, Sakai N<sup>2,3</sup>, Matushima H<sup>4</sup>, Takami M<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Dept Clin Immuno Oncol, Clin Res Inst for Clin Pharmacol Therapeut, Showa Univ, <sup>2</sup>Pharmacol Res Cent, Showa Univ, <sup>3</sup>Dept Pharmacol, Sch Dent, Showa Univ, <sup>4</sup>Japan Electron Optics Laboratory Ltd.

---

Osteoclasts are highly polarized cells that form ring-like structure of actin (called “actin ring”) inside cells and ruffled borders (RB) toward the bone surface during bone resorption. However, the precise functions of these structures are unknown. Using CLEM and FIB-SEM, we analyzed three-dimensional structure of actin ring and ruffled borders of bone-resorbing osteoclasts cultured on dentin slices. Analysis by CLEM revealed that most of actin-ring localized at cell portion of the direction of movement (actin-ring area), which is attached on the undecalcified area and edge of decalcified area (lacunae). On the other hand, analysis by FIB-SEM (pitch: 150 nm or 10 nm) indicated that non-actin ring area consists of much more amounts of ruffled borders and cytosol that contains nuclei, mitochondria and vacuoles compared to the actin ring area. These results suggest a novel concept of the roles of actin ring such as sensing of unmineralized area of bone and towing the whole cell body toward there.

In addition, osteoclasts had a relationship between nuclear morphology and the direction of cell migration, and had the intracellular polarity of vacuoles.

At the symposium, we will consider the three-dimensional structure of osteoclasts and the mechanism of bone resorption fossa formation.

**Conflict of Interest:** No

---



---

## US3-4 骨髄を形成する骨格系細胞の細胞起源の解明

---

○松下 祐樹

長大 院医歯薬 細胞生物

---

近年、骨格幹細胞についての研究は加速しており、時期空間特異的に複数種類の骨格幹細胞が存在することが明らかになりつつある。その中でも骨髄における骨格幹細胞として、レプチン受容体陽性 (LepR<sup>+</sup>) 細胞や CXCL12 陽性骨髄間質細胞 (CXCL12-abundant reticular cells: CAR 細胞) の一部が、成体以降の骨格形成やメンテナンスに寄与すると同時に、骨髄間質細胞自体には多様性が存在することが明らかになっている。われわれは *Cxcl12-creER* マウスを新規に作出し、*in vivo* における CAR 細胞のダイナミクスの詳細を細胞系譜追跡とシングルセル解析によって、骨芽細胞分化マーカーを高発現する Osteo-CAR 細胞と脂肪細胞分化マーカーを高発現する Adipo-CAR 細胞の亜集団に分類されることを明らかにした。

次に、骨髄を形成する CAR 細胞を含む骨格系細胞の起源の解明を試みた。生後の骨髄のシングルセル解析により、CAR 細胞には異なる起源が存在することが予想されたため、胎生期にさかのぼり軟骨原基を構成する軟骨系細胞と周囲の軟骨膜に着目し、それぞれの細胞を特異的に標識する *creER* マウスを用いて成体まで細胞系譜追跡を行った。非常に興味深いことに、軟骨系細胞は骨幹端部の CAR 細胞に、軟骨膜細胞は骨幹部の CAR 細胞に選択的に分化し、さらに前者は骨、軟骨マーカーを強く発現する Osteo-CAR 細胞、後者は脂肪マーカーを発現する Adipo-CAR 細胞であることが明らかとなった。このことから、胎生期の軟骨膜は軟骨とともに骨格形成の一端を担っており、骨の発生段階で、骨髄の骨格系細胞の多様性はすでに運命づけられている可能性が明らかとなった。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Distinct cellular origins of the fetal cartilage dictate bone marrow stromal cell heterogeneity

---

○Matsushita Y

Dept Cell Biol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

---

Bone marrow stromal cells (BMSCs) are highly heterogeneous cell populations supporting the major functions of the skeleton, with a majority of them expressing C-X-C motif chemokine ligand 12 (CXCL12). Recent studies demonstrate that CXCL12-abundant reticular (CAR) cells are comprised of two functionally distinct cellular subsets of pre-osteoblast-like (Osteo-CAR) and pre-adipocyte-like (Adipo-CAR) cells. Developmentally, BMSCs including CAR cells have dual origins in the perichondrium and the cartilage; however, how these two cellular sources contribute to distinct bone marrow stromal compartments remains unknown. Here, we show that cells in the outer layer of the fetal perichondrium preferentially contribute to Adipo-CAR cells and diaphyseal osteoblasts. In contrast, the fetal cartilage becomes Osteo-CAR cells in the metaphysis. A subset of early perichondrial cells at the fetal stage provides a preferential source of adipogenic subsets of BMSCs in adulthood, supporting the notion that the BMSC heterogeneity is developmentally prescribed within the distinct cellular sources of the fetal cartilage.

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

---

---

## US3-5 口腔内細菌叢破綻の糖・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、私たちは常に膨大な口腔内細菌を唾液や食べ物とともに飲み込んでいる。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。私たちの行ったモデルマウスの研究においても、歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* 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、歯周病による菌血症に注目し、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。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

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

---

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.

---

---

## US3-6 歯の硬化に必要な血管新生と象牙質形成のカップリング

---

○松原(高橋) 智子, 久保田義顕

慶應大 医 解剖

骨格系は骨と歯で構成され、身体活動や咀嚼などの機能をサポートすることが知られている。近年、免疫組織科学技術の進歩により骨はその形成・維持過程の細胞・分子メカニズムの理解が飛躍的に進んでいる一方で、歯は身体の中で最も硬い組織であることから、骨で適用された組織学的、遺伝学的なアプローチを用いることが困難なため、歯の発生における正確な細胞・分子メカニズムは不明なままである。本研究ではまず、従来の硬組織脱灰法や免疫染色のプロトコルなどを最適化したことにより、歯髄血管の高解像度3次元可視化に成功した。次に血管新生に必須であることが報告されている血管内皮成長因子(Vascular endothelial growth factor: VEGF)とその受容体(Vascular endothelial growth factor receptor: VEGFR)に着目したところ、歯髄においてVEGFは象牙芽細胞に発現していることや、象牙芽細胞特異的にVEGFを欠損したマウス(*Osx-Cre<sup>ERT2+</sup>Vegfa<sup>lox/lox</sup>*)と血管内皮特異的にVEGFRを欠損したマウス(*Cdh5-BAC-Cre<sup>ERT2+</sup>Vegfr2<sup>lox/lox</sup>*)の両者において象牙質の形成不全や疎な血管形成を認めることが明らかになった。さらに組織培養実験により、歯髄内の血管は酸素や栄養素を供給するだけでなく、複数の血管内皮由来パラクライン因子(アンジオクリン因子)の供給によっても象牙質の形成に貢献していることが示唆された。以上のことから歯髄血管の可視化に成功したことにより、歯の硬化を調節する血管のサブタイプを同定し、このサブタイプと象牙芽細胞間の細胞相互作用は骨格系の構成要素である骨と歯の類似点と相違点の両者を初めて明らかにした。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

## Coupling of angiogenesis and odontogenesis orchestrates tooth mineralization in mice

---

○Matsubara T, Kubota Y

Dept Anat, Keio Univ Sch Med

The skeletal system consists of bones and teeth, both of which are hardened via mineralization to support daily physical activity and mastication. The precise mechanism for this process, especially how blood vessels contribute to tissue mineralization, remains incompletely understood. To elucidate its mechanism, we established an imaging technique to visualize the 3D structure of the tooth vasculature at a single-cell level. Using this technique combined with single-cell RNA sequencing, we identified a unique endothelial subtype specialized to dentinogenesis, a process of tooth mineralization, termed periodontal tip-like endothelial cells. These capillaries exhibit high angiogenic activity and plasticity under the control of odontoblasts; in turn, the capillaries trigger odontoblast maturation. Metabolomic analysis demonstrated that the capillaries perform the phosphate delivery required for dentinogenesis. In this presentation, we show the fundamental cell-to-cell communications that orchestrate tooth formation, angiogenic-odontogenic coupling, a distinct mechanism compared to the angiogenic-osteogenic coupling in bones. This mechanism contributes to our understanding concerning the functional diversity of organotypic vasculature.

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

---

---

## US4-1 How oral bacteria contribute to the onset of periodontitis? —Bacterial effects on the glucose metabolic activity of host cells—

---

○Otani H<sup>1,2</sup>, Washio J<sup>1</sup>, Liu S<sup>1</sup>, Sasaki S<sup>1</sup>, Yamada S<sup>2</sup>, and Takahashi N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

<sup>2</sup>Div Periodontol Endodontol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

### Introduction:

Periodontitis causes the destruction of periodontal tissues. The pathogenesis of periodontitis has been investigated by many studies; however, the onset of periodontitis, especially the direct effect of periodontitis-associated bacteria on periodontal tissues is still unclear. Therefore, in this study, we investigated the effects of culture supernatants of representative periodontitis-associated bacteria on host cells, especially glucose metabolism which is an essential cellular function and a sensitive indicator of cell activity.

### Materials and Methods:

We used *Porphyromonas gingivalis* wild-type strain ATCC33277 (WT), its gingipain-defective mutant KDP136 (DM), *Prevotella intermedia* ATCC25611 and *Fusobacterium nucleatum* ATCC25586. As host cells, HaCaT (human skin keratinocyte) cells were used. These bacterial strains were grown anaerobically and the culture supernatants were collected. The effects of the culture supernatants on the glucose metabolism of the host cells were evaluated. Glucose metabolic activity of host cells was evaluated using a pH-stat system that can monitor the amount of acid produced from glucose by host cells. The organic acids in the culture supernatants were analyzed with HPLC, and the effects of some organic acids on host cells were also examined similarly.

### Results and Conclusion:

The culture supernatants of *P. gingivalis* WT inhibited the glucose metabolic activity of host cells significantly, but those of *P. gingivalis* DM, *P. intermedia* and *F. nucleatum* did not inhibit. Heat-treatment (80°C for 15 min) abolished the inhibitory activity of the culture supernatants of *P. gingivalis* WT. Main organic acids (butyrate, propionate, iso-butyrate, iso-valerate) detected in culture supernatants of *P. gingivalis* WT had no effect on the glucose metabolic activity of the host cells. These results suggest that gingipains or gingipain-associated proteins derived from *P. gingivalis* inhibits the glucose metabolism of host cells. This inhibitory function of *P. gingivalis* could relate to the onset of periodontitis. We are currently conducting further research to identify molecules involved in metabolic inhibition. In this symposium, we would like to present our latest findings, including this topic.

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

---



---

## US4-2 Profiling of microbiota in the remaining green tea in plastic bottles after direct drinking

---

○Wakui A<sup>1</sup>, Kawachi M<sup>1</sup>, Takahashi N<sup>1</sup>, Kaku N<sup>1</sup>, Maruyama S<sup>1</sup>, Miyazawa M<sup>1</sup>, Abe T<sup>1</sup>, Sato A<sup>1</sup>, Washio J<sup>2</sup>, Takahashi N<sup>2</sup>, Sato T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Clin Chem, Niigata Univ Grad Sch Health Sci

<sup>2</sup>Div Oral Ecol & Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

It has been speculated that oral bacteria can be transferred to drinks in plastic bottles after direct drinking, and that the bacteria can then multiply in the bottles. Since it is recommended that any leftover drinks in plastic bottles be discarded after drinking, there is currently limited scientific information on the concentration and composition of bacteria in the remaining liquids in plastic bottles after direct drinking from the bottles. Recently, we characterized the bacteria in the remaining Japanese tea (non-catechin) in plastic bottles after direct drinking from the bottles (Wakui *et al.*, 2021). Then, in the present study, the transfer of oral bacteria to the bottles and bacterial survival in the remaining green tea, containing higher concentrations of the catechins, 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 (ca. 20 years of age) were asked to drink approximately 100 mL of a green tea from a plastic bottle (catechin; 0.4 or 0.8 mg/mL). The serial-diluted samples of the remaining drinks in the bottles were inoculated onto the CDC Anaerobe 5% Blood Agar plates, and incubated anaerobically at 37°C for 7 days. Genomic DNA was extracted from individual colonies, and bacterial species were identified by 16S rRNA gene sequencing (Wakui *et al.*, 2021, Kawachi *et al.*, 2022).

The mean amounts of bacteria were  $(6.2 \pm 0.7) \times 10^2$  colony-forming units (CFU)/mL and  $(1.7 \pm 1.4) \times 10^3$  CFU/mL from the green tea (catechins; 0.4 and 0.8 mg/mL) immediately after drinking, respectively. In contrast,  $(1.5 \pm 0.9) \times 10^2$  CFU/mL and  $(3.3 \pm 4.4) \times 10^1$  CFU/mL were recovered from the samples 24 h after drinking, respectively. *Streptococcus* (207 strains, 44.3%), *Neisseria* (54 strains, 22.8%), *Actinomyces* (26 strains, 11.0%), *Veillonella* (8 strains, 3.4%), *Fusobacterium* (7 strains, 3.0%), *Gemella* (7 strains, 3.0%), *Rothia* (6 strains, 2.5%), and *Schaalia* (5 strains, 2.1%) were predominant in the remaining green tea (catechin; 0.8 mg/mL) immediately after drinking.

From these findings, oral bacteria, *e.g.*, *Streptococcus*, *Neisseria*, and *Actinomyces*, were found to transfer into the green tea, and their bacterial compositions were found to resemble that of human saliva. The bacterial levels of the green tea (catechins; 0.4 and 0.8 mg/mL) were quite distinct from those of the Japanese tea (non-catechin) and decreased to  $10^2$  and  $10^1$  levels. This was likely due to the higher concentrations of the catechins of the green tea, when compared to the non-catechin tea drinks (Wakui *et al.*, 2021). This suggests that the remaining of green tea may be preserved for a longer period than non-catechin tea drinks from the view point of bacterial levels.

### References:

**Wakui A *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.

**Kawachi M, Wakui A *et al.***: Profiling of the microbiota in the remaining sports drink and orange juice in plastic bottles after direct drinking. *Int J Environ Res Public Health* **19**: (revised), 2022.

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

---

---

### **US4-3 Investigation of oral-gut immune responses in a mouse model of periodontitis**

---

○Kobayashi R, Senpuku H

Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

---

The intestinal tract maintains and enhances homeostasis through the cooperation of the microflora and immune cells, preventing pathogenic bacteria colonization and tolerating food-derived antigens. Therefore, the development of chronic periodontitis is associated with the risk of systemic diseases by the intestinal microflora and the intestinal immune system altered by ingesting periodontal pathogenic bacteria. To elucidate whether periodontitis is a risk factor for developing systemic diseases, we investigated the effects of periodontal pathogenic bacteria on the intestinal immune system using a periodontitis mouse model inoculated orally with *Porphyromonas gingivalis* (Pg). Oral inoculation of Pg caused horizontal bone resorption in the alveolar bone with gingival inflammation. Further, osteoclasts were observed on the alveolar bone. Flow cytometry analysis observed enhanced numbers of activated RANKL-CD4<sup>+</sup> T cells in the gingival tissue. These suggest that alveolar bone resorption is possibly involved in osteoclast activation by these T cells. In the intestinal microflora, the *Jetogalicoccus*, *Staphylococcus*, and *Clostridium* were increased at the genus level. The frequency of M1-type macrophages was increased; however, Th17 cell was suppressed, in the lamina propria of the small intestine. In addition, IgA production was markedly suppressed when compared with non-inoculated control mice. Based on these results, the Pg-induced periodontitis mouse model presented a relationship between periodontal diseases and the immune system induced by microflora. The analysis of cellular dynamics between the oral cavity and the intestinal area in the same individual will contribute to an understanding of periodontitis-related systemic diseases.

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

---

---

## **US4-4 In vitro study on effective control of oral biofilm by Cetylpyridinium Chloride (CPC)**

---

○Akiyama T<sup>1</sup>, Yamaguchi E<sup>1</sup>, Inubushi J<sup>1</sup>, Muto N<sup>2</sup>, Obana N<sup>3</sup>, Nomura N<sup>4</sup>

<sup>1</sup>R&D Dept, Sunstar Inc., <sup>2</sup>Grad Sch Life Environ Sci, Univ Tsukuba, <sup>3</sup>TRMC, Fac Med, Univ Tsukuba, <sup>4</sup>Fac Life Environ Sci, Univ Tsukuba

---

Biofilm (BF) is a complex structure formed by microorganisms present on the tooth surface. The amount of bacteria gradually increases as BF develops. Following this, BF mass increases which favors the transition to anaerobic state, facilitating growth of anaerobic bacteria such as periodontal pathogens, causing periodontitis. Cetylpyridinium chloride (CPC) is one of bactericidal agents used to prevent periodontal disease which has retention and antibacterial properties on tooth surface. In this study, we evaluated the efficacy of CPC against BF formation on hydroxyapatite (HA) disks that mimic tooth surface. We also examined treated BF using confocal laser scanning microscopy. Formations of *Streptococcus mutans* and saliva-derived BF were inhibited on CPC-treated HA disks. When saliva-derived BF was treated with CPC twice a day for 3 days, BF mass was reduced. In addition, some of the bacteria in deeper part of the BF were killed by CPC treatment. These results suggest that CPC does not only suppress BF formation, but it also kills bacteria in mature BF which could eliminate formed BF. Therefore, CPC could be an effective ingredient for the prevention of periodontal disease.

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

---

---

## US4-5 Impact of $\beta$ -glucan metabolism on the development of co-biofilm with *T. forsythia* and *F. nucleatum*

---

○Honma K<sup>1</sup>, Sasaki H<sup>1,2</sup>, Sharma A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Biol, Univ at Buffalo, SUNY

<sup>2</sup>Div Microbiol, Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

---

Periodontitis is a bacterially induced chronic inflammation of the tooth supporting tissues that results in alveolar bone destruction and tooth loss. The disease develops due to subgingival biofilm predominantly comprised of Gram-negative bacteria, with *Tannerella forsythia* (*Tf*) among them being a frequent pathogenic species.

*Fusobacterium nucleatum* (*Fn*) is thought to be a ‘bridge-bacterium’ which, due to its ability to co-aggregate with both the early and late colonizing species, plays a dominant role in subgingival biofilm plaque development. Moreover, a recent meta-transcriptomic study indicated that *Fn* might act as a keystone species of dental plaque. Regarding *Tf-Fn* interactions, *Tf* and *Fn* form synergistic dual species biofilms, and a strong physical association between *Fn* and *Tf* is observed in multispecies in vitro biofilms as well as in human subgingival dental plaque communities.

As one of the important factors in proliferating *Tf-Fn* co-biofilm, we found a role of glucose released from hydrolyzed  $\beta$ -glucan by *Tf*  $\beta$ -glucanase (*Tf* *glcA*), whose expression is induced in the bacterium in response to contact with *Fn*. Furthermore, a two-gene cluster coding for a putative extracytoplasmic function (ECF) sigma factor *Tf* SigG and a FecR-like anti-sigma factor *Tf* FecR is located upstream of a genetic operon harboring the *Tf* *GlcA*-encoding gene. We also analyzed the role of these factors in regulating *GlcA* expression in *Tf*.

We show that a regulatory system comprising an ECF sigma factor *Tf* SigG and a FecR-like anti-sigma factor *Tf* FecR is responsible for *Tf* *GlcA* expression in response to *Fn* by  $\beta$ -glucanase assay with *Tf* *sigG* or *fecR* gene deletion mutants.

Results of this study suggest the role of an ECF sigma factor/anti-sigma factor system in the secretion of  $\beta$ -glucanase by *Tf*, promoting mutualism between *Tf* and *Fn*.

In conclusion, we identified an ECF sigma factor (*Tf*SigG) with a FecR-like cognate anti-sigma factor, forming a bipartite regulatory system involved in the regulation of  $\beta$ -glucanase operon in *Tf*. This regulatory system responds to *Fn* sensing and potentially other stimuli.

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

---



---

## US5-1 腫瘍血管内皮細胞の特性とがん免疫

---

○樋田 京子

北大 院歯 血管生物分子病理

がん微小環境では VEGF シグナル経路が活性化されており，腫瘍血管は未熟な構造をとっているため，免疫細胞ががん組織内へ十分動員されていないことが多い．VEGF シグナル経路の阻害剤である血管新生阻害剤には，がんの兵糧攻め以外に，未熟な血管を成熟化し，抗がん剤の送達性やがん組織内に免疫細胞数を増やすという効果も期待されている．そのため，血管新生阻害剤は肺がんのほか複数のがんにおいて免疫チェックポイント阻害剤や抗がん剤に併用され治療効果をあげている．

腫瘍血管は構造だけではなく，内皮細胞レベルで様々な特異性を有していることも知られている．我々はこれまで腫瘍血管内皮細胞の特異性について報告してきた．例えば，腫瘍血管が産生する biglycan は血管内皮細胞と周皮細胞の結合を減弱し血管の未熟さをもたらす．さらにがん細胞の遊走浸潤能を増強し，がんの転移を促進させる働きやがんの線維化促進といった微小環境への作用を見出している．また，腫瘍血管内皮細胞は酸化 LDL の受容体 LOX-1 を発現し，酸化 LDL と結合することにより CCL2 を産生し好中球を誘導する．これらは全てがん免疫にとっては負に働く．実際，腫瘍血管内皮細胞の特異分子を標的とすることによりがん免疫療法や抗がん剤治療の効果増強することもわかった．さらに，腫瘍内に存在する高内皮静脈の局在は口腔がんの予後と関連することなどもわかり，腫瘍内の血管の多様な機能と周囲細胞との多彩な相互作用によりがん免疫が制御されていることが示唆されている．本シンポジウムでは腫瘍血管のがん免疫に与える影響について概説する．

**【利益相反】** なし

---

## Tumor endothelial cells and cancer immunity

---

○Hida K

Vascular Biol & Mol Biol, Grad Sch Dent Med, Hokkaido Univ

In the cancer microenvironment, the VEGF signaling pathway is activated and tumor blood vessels are immature structures, which often do not allow immune cells to fully mobilize into the cancer tissue. Thus, VEGF inhibitors result in the maturation of blood vessels, improve the delivery of anticancer drugs, and immune cells in cancer tissue. Therefore, angiogenesis inhibitors have been used in combination with immune checkpoint inhibitors to achieve therapeutic effects. Tumor blood vessels are known to have various specificities not only in structure but also in the endothelial cell function. We have reported on the specific characteristics of tumor vascular endothelial cells. For example, we have found that biglycan produced by tumor endothelial cells cause immaturity of blood vessels and induction of cancer cell metastasis and neutrophil migration, and promotion of cancer fibrosis. These act negatively on cancer immunity. Furthermore, the localization of high endothelial venules in tumors is associated with the prognosis of oral cancer, suggesting that cancer immunity is regulated by the diverse functions of blood vessels in tumors and their interactions with surrounding cells. In this symposium, I will review the influence of tumor blood vessels on cancer immunity.

**Conflict of Interest:** None

---

---

## US5-2 がん微小環境における細胞老化の新機能

---

○高橋 暁子

がん研究会 がん研 細胞老化

---

がんは加齢と共に罹患率が上昇する加齢性疾患の一つであり、がんの発症には遺伝子の変異と共に、ヒトの体を構成する細胞の老化が関与していることが知られている (Loo *et al.*, *Cancer Sci.*, 2020). 細胞老化は生体に加わる様々な発がんストレスによって誘導され、老化した細胞においては、炎症性タンパク質や細胞外小胞 (エクソソーム) などを分泌する SASP (Senescence-associated secretory phenotype) という表現型が観察される (Takahashi *et al.*, *Nature Cell Biol.*, 2006; Takahashi *et al.*, *Nature Commun.*, 2017). 細胞外へと分泌された SASP 因子は周囲の組織に慢性炎症を引き起こし、加齢性疾患の発症に寄与することが近年明らかになりつつある。そこで、老化細胞で SASP が起こる分子メカニズムを解明し、それを制御することが加齢に伴うがんの予防や治療に重要であると考えられる。

私たちはこれまでに老化細胞で SASP が起こる分子機構の解析を行い、細胞質核酸を介した自然免疫応答の活性化 (Takahashi *et al.*, *Nature Commun.*, 2018) や、エピゲノムの異常 (Takahashi *et al.*, *Mol. Cell.*, 2012; Miyata *et al.*, *PNAS*, 2021) が、炎症性遺伝子群 (SASP 遺伝子群) の発現を誘導することを明らかにしてきた。さらに、間質の老化細胞が分泌する SASP 因子の中には、微小環境を改変することでがんの発症や進展に機能する因子があることを見出した。このように、老化細胞が分泌する SASP 因子が加齢に伴う発がんに関与する可能性が高いことから、今後、老化細胞や SASP を標的とした新しいがんの治療戦略へと繋げることを目指している。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### New function of cellular senescence in the cancer microenvironment

---

○Takahashi A

Cellular Senescence, Cancer Inst, JFCR

---

Aging is a risk factor for various age-related diseases because the accumulation of senescent cells during the aging process drives inflammatory responses *in vivo*. Cellular senescence induced by a variety of stressors is considered to act as an important tumor suppression mechanism and it also contributes to numerous physiological and pathological processes through the senescence-associated secretory phenotype (SASP). Therefore, an understanding of the molecular mechanism involved in SASP regulation could have a tremendous impact on our health. We have previously reported that the activation of DNA sensing pathway and epigenetic de-regulation induce SASP in senescent cells. Moreover, we have recently demonstrated that some SASP factors cause the alteration of microenvironment, resulting in cancer development at early carcinogenesis. Our research goal is to reveal the biological roles of these SASP factors and control age-associated diseases.

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

---

---

### US5-3 骨破壊性腫瘍の骨病変進展機序と骨系細胞を介した腫瘍制御 —骨再生を併せ持つ新規抗腫瘍薬の開発—

---

○寺町 順平

岡大 院医歯薬 口腔機能解剖

---

多発性骨髄腫 (MM) は、とりわけ骨に親和性を持ち、破骨細胞による骨吸収の亢進と骨形成の強力な抑制により骨破壊病変を形成しつつ進展する造血器悪性腫瘍である。MM は未だ治癒がもたらされておらず、腫瘍進展の抑制とともに骨吸収を抑制しつつ骨形成を惹起させる治療法の開発が喫緊の課題である。我々はこれまで骨病変部での MM 細胞の治療抵抗性の獲得機序の解明のための基礎検討と新規治療標的の探索を多面的に行い、腫瘍細胞のみならず破骨細胞と骨髄間質細胞でもセリンスレオニンキナーゼ TGF- $\beta$ -activated kinase 1 (TAK1) のリン酸化が恒常的に亢進していることを見出した。TAK1 を阻害すると MM 細胞に著明な細胞死を誘導するだけでなく、破骨細胞形成が抑制される一方、MM により抑制された骨芽細胞分化が回復することを見出した。したがって、TAK1 の抑制はより強力な腫瘍抑制と骨破壊防止・骨再生誘導活性を備えた新規の治療戦略になることが予想される。さらに、TAK1 の恒常的リン酸化は脱リン酸化酵素 Protein phosphatase 2A (PP2A) の内因性阻害因子である Cancerous inhibitor of PP2A (CIP2A) の高発現により、MM 細胞内の PP2A 活性が減弱することで惹起されていることを見出した。

本シンポジウムでは、以上の研究結果を紹介するとともに、骨病変形成抑制作用を併せ持つ抗腫瘍薬の開発についても紹介したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Mechanisms of myeloma bone disease and controlling of tumor growth through bone lineage cell —Development of novel anti-myeloma agents with potent bone anabolic actions—

---

○Teramachi J

Dept Oral Funct Anat, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

---

Multiple myeloma is a malignancy of plasma cells, and exclusively expand in the bone marrow. MM cells enhance osteoclastogenesis, and suppress osteoblastic differentiation from bone marrow stromal cells, leading to extensive bone destruction with rapid bone loss. MM still remains incurable, therefore, to overcome tumor growth and repair bone, new treatment modalities are urgently wanted. We found that TAK1 is constitutively overexpressed and phosphorylated not only in MM cells but also in osteoclasts and bone marrow stromal cells. TAK1 inhibition not only induces MM cell death, but also suppresses osteoclast formation, while restoring osteoblast differentiation suppressed by MM. Therefore, TAK1 inhibition may become a promising anti-MM therapeutic option with a bone-modifying activity. The constitutive phosphorylation of TAK1 is caused by the attenuation of PP2A activity in MM cells due to the aberrant expression of CIP2A, an endogenous inhibitor of PP2A.

In this symposium, I would like to introduce the above results and the development of anti-tumor drugs with a bone modifying activity.

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

---

---

## US5-4 口腔癌の浸潤・転移機構

---

○工藤 保誠

徳大 院医歯薬 口腔生命科学

超高齢化社会を迎えた我が国では、口腔癌の発生率は近年増加傾向を示している。他の癌に比べてQOL低下が著しい口腔癌に対して、早期発見や進展の予防のための新たな診断法の開発は喫緊の課題で、そのためには口腔癌の発生・進展の分子メカニズムの解明が必要となる。口腔癌の発生・進展には、さまざまな因子が関与している。癌の発生には、細胞周期調節の異常は必須であり、細胞周期調節因子に遺伝子変異や遺伝子発現調節異常、翻訳後調節異常が認められる。また、癌化した細胞は原発巣から離れ、浸潤を介して離れた場所に転移する。その過程で、癌細胞は接着性を失い、上皮性の性格を失い、間葉系の性質を獲得する、いわゆる上皮間葉移行 (EMT) をおこすことが知られている。最近、口腔癌組織のシングルセル・トランスクリプトーム解析データから、EMT を起こす途中の段階である partial-EMT が予後と深く関わることが報告されている。我々は、口腔癌の予後に partial-EMT に関わる因子の発現異常が関与することを見いだしている。さらに、歯周病原菌である *Fusobacterium nucleatum* が上皮系性質を有する口腔癌細胞に対して、partial-EMT の性質を有する細胞に変換することを見出している。本講演では、口腔癌の進展メカニズムにおける partial-EMT の関与に関して、最近の見解に加えて、我々のこれまでの研究成果を紹介したい。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する

---

### The mechanism on invasion & metastasis of oral cancer

---

○Kudo Y

Dept Oral Biosci, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

Japan has entered a super-aging society. The incidence of oral cancer has been on the rise in recent years. Oral cancer has a marked decrease in QOL compared to other cancers. Therefore, the development of a novel diagnostic method for early detection and prevention of progression is an urgent issue. To achieve this, the clarification of the molecular mechanism of the development and progression of oral cancer is required. Numerous factors are involved in the development and progression of oral cancer. Abnormal cell cycle regulation is essential for the development of cancer. In addition, cancer cells move away from the primary lesion and metastasize to distant areas via invasion. In this process, cancer cells are known to undergo so-called epithelial mesenchymal translocation (EMT), which loses epithelial characters and acquires mesenchymal properties. Recently, by single-cell transcriptome analysis of oral cancer tissues, partial-EMT, which is in the intermediate state of EMT induction, is deeply involved in cancer progression. We have found that partial-EMT-related genes were associated with poor prognosis of oral cancer. Furthermore, *Fusobacterium nucleatum*, which is associate with periodontal disease, converts oral cancer cells with epithelial properties into cells with partial-EMT properties. In this talk, we would like to introduce our recent findings regarding the involvement of partial-EMT in the mechanism of oral cancer progression.

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

---



## US6-1 シアル酸認識レクチンと認識糖鎖の相互作用による細胞機能制御機構

○古川 鋼一<sup>1</sup>, 橋本 登<sup>2</sup>, Ilhamjan Sabit<sup>3</sup>, 山本 朗仁<sup>2</sup>, 大海 雄介<sup>4</sup>, 古川 圭子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>中部大 生命健康 生命医, <sup>2</sup>徳大 組織再生 院医科, <sup>3</sup>名大 院医 生化 2, <sup>4</sup>中部大 臨床工

シアル酸認識レクチンは、ほとんどが免疫系細胞に発現している。多くの場合、細胞質の ITIM モチーフを介して抑制性シグナルを伝達し、様々な病態における免疫制御に重要な役割を果たしている。ここでは、単球・マクロファージや顆粒球に発現する Siglec-9、および NK 細胞や単球の一部に発現する Siglec-7 が、各々認識する糖鎖との相互作用に基づき、免疫細胞の機能とリンガン糖鎖発現細胞に及ぼす作用に関して紹介する。

まず Siglec-9 は広範な細胞に反応するが、特に強い反応を示した AS (astrocytoma) 細胞を用いて、Siglec-9 発現 U937 細胞および可溶性 Siglec-9-Fc を作用させたときの反応を検討した。Siglec-9 の結合によって AS 細胞の剥離と運動性や浸潤能の亢進が惹起された。この時、U937 において SHP-1 の Siglec-9 への結合が見られるとともに、AS 細胞での FAK, Akt 等のシグナル分子の分解が見られた。しかし、p-Akt 等の活性型は、分解ではなくむしろ増強傾向を示し、細胞の移動方向に局在することが示された。即ち、Siglec-9 との相互作用によるシグナルが、癌細胞の移動能を促進し、免疫逃避の手段となることが示唆された。

一方、Siglec-7 はジシアルリル糖鎖や硫酸基等を認識するとの報告があるが、糖脂質としてはガングリオシド GD3 をよく認識するため、大腸癌細胞 DLD-1 に GD3 を発現させて、Siglec-7 の結合性を検討した。ところが、Siglec-7-Fc は DLD-1/GD3+ に結合せず、その原因として GD3 のセラミド部位の水酸化が考えられた。水酸化に関わる 2 酵素の遺伝子ノックアウトにより結合性が出現すると同時に、NK の細胞傷害作用に対する抵抗性が誘導された。大腸癌の悪性化に伴う脂質の脱水酸化が免疫逃避の手段となっていることが示唆される。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

## Regulatory mechanisms of cellular function by the interaction between sialic acid-recognizing lectins and recognized sugar chains

○Furukawa K<sup>1</sup>, Hashimoto N<sup>2</sup>, Ilhamjan S<sup>3</sup>, Yamamoto A<sup>2</sup>, Ohmi Y<sup>4</sup>, Furukawa K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Chubu Univ Dept Life Health Sci, Biomed Sci, <sup>2</sup>Tokushima Univ Dept Tissue Regene Dept Biomed Sci, <sup>3</sup>Nagoya Univ Grad Sch Med Dept Biochem, <sup>4</sup>Chubu Univ Clin Engineer

Majority of sialic acid-recognizing lectins are expressed on immune cells. In many cases, inhibitory signals are transduced via ITIM motif. Here, we introduce effects of interaction between Siglec-9 and Siglec-7, and sugar chains on the immune cell function and ligand-expressing cells. First, Siglec-9 is broadly expressed, and we used AS (astrocytoma) cells based on its strong reaction with Siglec-9 to analyze reaction to Siglec-9-expressing U937 or soluble Siglec-9-Fc. Upon Siglec-9 binding, detachment, increased mobility and invasion of AS were induced. SHP-1 binding to Siglec-9 was also detected in U937, and degradation of signal molecules such as FAK, Akt etc was observed. However, their active forms like p-Akt rather increased, and localized at the front of cell movement. Consequently, Siglec-9-caused signals may enhance cell motility, leading to escape from immune surveillance. On the other hand, Siglec-7 is known to well react with ganglioside GD3. So, we established GD3-expressing colon cancer DLD-1. But, Siglec-7 did not bind to DLD-1/GD3+ cells, probably because hydroxylated ceramides of GD3 disturbed. After knockout of hydroxylation enzyme genes, Siglec-7 binding emerged, and resistance to NK toxicity was also observed, suggesting lipid dehydroxylation might be utilized in the advanced colon cancers for the escape from immune surveillance.

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



---

## US6-2 シアル酸認識レクチンと免疫応答

---

○鏑田 武志

日大 歯 病理

動物細胞の細胞表面は糖脂質や糖タンパク質などに由来する糖鎖の層 (Glycocalyx) でおおわれている。シアル酸は酸性9単糖でしばしば糖タンパク質や糖脂質の糖鎖の非還元末端に存在するため動物細胞の最外層に存在する。シアル酸認識レクチンである Siglec ファミリーの分子の多くは免疫細胞に発現する抑制性の膜分子で、シアル酸を認識して免疫細胞の活性化を抑制する。シアル酸は動物細胞に発現するが植物や一般的な微生物には存在しない。一方、病原微生物の中にはシアル酸を発現するものがあり、シアル酸がおそらく免疫応答を抑制することで病原性因子として働く。このためシアル酸は自己のモチーフとして機能し、病原体の一部がその機能を利用することで免疫応答から逃れるものとされる。がん細胞の一部でシアル酸発現を増強することが知られており、シアル酸により免疫応答から逃避することが示唆される。実際、Siglec の機能阻害によりがん免疫が増強することが示されている。また、我々は、シアル酸を含有する糖脂質であるガングリオシドへの自己抗体産生に関わる神経免疫疾患ギラン・バレー症候群で、Siglec-10 の機能喪失変異が集積していることを示し、Siglec が自己寛容に関わることを明らかにした。以上のように Siglec ファミリーのレクチンは自己のモチーフであるシアル酸を認識して免疫細胞の活性化を抑制することで、自己寛容に関わるとともに、がん免疫療法 (チェックポイント阻害) の標的となりうる。

【利益相反】 なし

---

## Sialic acid-binding lectins and immune responses

---

○Tsubata T

Dept Pathol, Nihon Univ Sch Dent

Sialic acid is an acidic nine-carbon sugar often located at the outermost layer of cells at the non-reducing ends of oligosaccharides on glycolipids and glycoproteins on the cell surface. Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectins (Siglecs) are mostly inhibitory receptors expressed in various immune cells, and inhibit activation of immune cells upon interaction with sialic acids. Sialic acids are present in animal cells but not in plants or microbes in general. However, sialic acids are expressed by some pathogens as a virulence factor. Sialic acids appear to serve as a self-associated molecular pattern (SAMP) to suppress immune responses, and some pathogens express sialic acids to escape from immunity. Some cancer cells highly express sialic acids, which may play a role in escaping from tumor immunity. Indeed, suppression of a Siglec was shown to augment tumor immunity. Recently, we showed that a loss-of-function mutation of Siglec-10 is accumulated in patients with Guillain-Barré syndrome that involves autoantibodies to gangliosides, sialic acid-containing glycolipids, suggesting a role of Siglecs in self-tolerance. Taken together, Siglecs suppress immune cell activation upon recognition of sialic acids thereby contributing to self-tolerance and serving as a target of cancer immune therapy.

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

---

---

### US6-3 Siglec-15 は破骨細胞分化・骨吸収機能および骨芽細胞分化に重要な役割を果たす

---

○宇田川 信<sup>1</sup>, 中村 美どり<sup>1</sup>, 小出 雅則<sup>2</sup>, 小林 泰浩<sup>2</sup>

<sup>1</sup>松歯大 歯 生化, <sup>2</sup>松歯大 総合歯科医学研 硬織機能解析

---

【目的】破骨細胞では、ITAM モチーフ含有分子の中では DAP12 と FcR $\gamma$  の発現が高く、ダブル欠損マウスは大理石骨病を呈する。津田らは、DAP12 と会合して、破骨細胞の分化に伴って特異的に発現が上昇する免疫グロブリンスーパーファミリー分子として、シアル酸受容体タンパク質 Siglec-15 を同定した。今回、Siglec-15 中和抗体の効果について検討した。

【結果】(1) Siglec-15 抗体は、骨芽細胞と骨髄細胞の共存培養系で形成された破骨細胞のアクチンリング形成および象牙質切片上の吸収窩形成を阻害した。(2) 骨髄細胞培養系に RANKL と M-CSF を添加し破骨細胞が誘導される条件で、Siglec-15 抗体は TRAP 陽性の多核破骨細胞の分化を阻害した。一方、アルカリホスファターゼ陽性の骨芽細胞が多数誘導された。この時、多核破骨細胞形成は完全に抑制されたが、単核 TRAP 陽性破骨細胞の存在が認められた。(3) 我々は、破骨細胞由来の LIF がスクレロスチン抑制を介して、骨形成を促進させるカップリング因子である可能性を見出した。Siglec-15 抗体で処理した破骨細胞においてカテプシン K および RANK の発現維持と同様に、LIF 発現も維持されていた。この結果から、Siglec-15 抗体で処理した破骨細胞による骨形成の促進作用に、LIF 発現の維持が関与する可能性が示された。(4) Siglec-15 抗体を正常マウスおよびオステオプロテゲリン (OPG) 遺伝子欠損マウスに毎週 1 回投与した。30 日目の骨組織を観察したところ、正常マウスにおける骨量増加作用および OPG 欠損マウスにおける骨粗鬆化の改善が認められた。

【利益相反】 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Siglec-15 plays an important role in osteoclast differentiation, function of bone resorption and osteoblast differentiation

---

○Udagawa N<sup>1</sup>, Nakamura M<sup>1</sup>, Koide M<sup>2</sup>, Kobayashi Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup>Inst for Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

---

[Purpose] In osteoclasts, DAP12 and FcR $\gamma$  are highly expressed among the ITAM motif-containing molecules, and double-deficient mice exhibit osteopetrosis. Tsuda *et al.* identified the sialic acid receptor protein Siglec-15 as an immunoglobulin superfamily molecule whose expression specifically increases with the differentiation of osteoclasts in association with DAP12. This time, the effect of Siglec-15 neutralizing antibody was examined.

[Results] (1) The Siglec-15 antibody inhibited the actin ring formation and bone resorbing activity of osteoclasts formed in the co-culture system of osteoblasts and bone marrow cells. (2) The Siglec-15 antibody inhibited the differentiation of TRAP-positive multinucleated osteoclasts in co-cultures. On the other hand, a large number of alkaline phosphatase-positive osteoblasts were induced. At this time, the presence of mononuclear TRAP-positive osteoclasts was observed. (3) We have found that osteoclast-derived LIF may be a coupling factor that promotes bone formation through suppression of sclerostin. LIF expression was maintained as well as cathepsin K and RANK expression in osteoclasts treated with Siglec-15 antibody. (4) Siglec-15 antibody was administered once a week to mice. When the bone tissue on the 30th day was observed, a bone mass-increasing effect in normal mice and an improving tendency of osteoporosis in OPG-deficient mice were observed.

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

---

---

## US6-4 シアル酸認識レクチンを用いた関節再生薬の開発

---

○山本 朗仁<sup>1</sup>, 橋本 登<sup>1</sup>, 加納 史也<sup>1</sup>, Xia Linze<sup>1,2</sup>, Ding Cheng<sup>1</sup>, 田中 栄二<sup>2</sup>, 高橋 伸典<sup>3</sup>

<sup>1</sup>徳大 院医歯薬 組織再生制御, <sup>2</sup>徳大 院医歯薬 顎顔面矯正, <sup>3</sup>愛知医大 整形外科

---

関節リウマチ(RA)は遷延する破壊性関節炎を主徴とする原因不明の自己免疫疾患である。メトトレキサート(MTX)と分子標的薬(生物学的製剤とJAK阻害剤)を用いた治療が標準的に行われているが、約3割の患者では奏効しないのが現実であり、重度の関節障害を伴う関節リウマチ患者は国内14-28万人いるとされている。近年、RAや変形性関節症(OA)に自己間葉系幹細胞を静脈内投与し、損傷した関節軟骨や骨の再生を促す細胞移植治療が注目されている。一方これまでの研究で、再生効果の多くは幹細胞が産生する液性因子によることが明らかとなってきた。このような背景から、細胞移植を伴わない、間葉系幹細胞が分泌する再生因子のみの投与によるCell Free再生医療の開発が望まれている。

我々は間葉系幹細胞であるヒト歯髄幹細胞の無血清培養上清(CM)の多面的な組織再生効果を明らかにしてきた。ヒト歯髄幹細胞の性状は、骨髄や脂肪組織由来の間葉系幹細胞と大きく異なり、神経幹細胞的性状を示す。これまでに歯髄幹細胞CMのセクレトーム解析によって新規再生因子である分泌型シアル酸認識レクチン sSiglec-9を同定した。関節炎症極期のRAモデルマウスにリコンビナント sSiglec-9を静脈内投与すると、sSiglec-9は損傷関節に集積し炎症反応を抑制した。さらに破壊した関節軟骨や骨の治癒を促すことを見出した。sSiglec-9の治療効果はJAK阻害薬に優っていた。本研究では関節軟骨および骨の治癒・再生過程における、sSiglec-9の標的細胞や作用機序について議論する。

**【利益相反】** 著者は利益相反がないことを宣言する。

---

### Development of joint regeneration drugs using sialic acid recognition lectins

---

○Yamamoto A<sup>1</sup>, Hashimoto N<sup>1</sup>, Kano F<sup>1</sup>, Xia L<sup>2</sup>, Ding C<sup>1</sup>, Tanaka E<sup>2</sup>, Takahashi N<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Tissue Regene and <sup>2</sup>Orthodont and Dentofac Orthoped, Inst Biomed Sci, Tokushima Univ Grad Sch, <sup>3</sup>Dept Orthopedic Surg, Aichi Med Univ

---

We have demonstrated the multifaceted tissue regenerative effects of serum-free culture supernatant (CM) of human dental pulp-derived mesenchymal stem cells. The properties of human dental pulp stem cells are very different from those of mesenchymal stem cells derived from bone marrow or adipose tissue, and they exhibit neural stem cell-like properties. We have identified a novel regenerative factor, the secreted sialic acid-recognizing lectin sSiglec-9, by secretome analysis of dental pulp stem cell CM. When recombinant sSiglec-9 was intravenously administered to a mouse model of RA in the extreme phase of joint inflammation, sSiglec-9 accumulated in the damaged joints and suppressed the inflammatory response. The therapeutic effect of sSiglec-9 was superior to that of JAK inhibitors. In this study, we discuss the target cells and mechanism of action of sSiglec-9 in the healing process of articular cartilage and bone. We will elucidate one aspect of the regeneration system of destroyed articular cartilage and bone and provide knowledge that will contribute to the development of novel joint regenerative medicines.

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

---

## 2-O1-D1 酸性モノフルオロリン酸ナトリウム歯面塗布法による歯質耐酸性の向上

○佐藤 涼一, 岩崎 美友, 杉原 直樹  
東歯大 衛生

モノフルオロリン酸ナトリウム (MFP) の生体毒性は NaF の 3 分の 1 と報告され、高濃度使用の安全性が高く、作用機序の違いにより歯質深部に奏功できる優れた特徴を持つ。本研究は MFP の高い生体安全性と歯質深部への奏功が可能な利点を活かし新規フッ化物歯面塗布法を開発することを目的とした。また、新開発方法と従来法応用後のエナメル質耐酸性を比較し有効性を検討した。本研究の試料には牛歯歯冠部唇側エナメル質を用いた。予防処置法は NaF (9000 ppmF, pH7.0), APF (9000 ppmF, pH3.6), MFP (9000 ppmF, pH7.0), リン酸酸性 MFP (AP-MFP, 9000 ppmF, pH3.6), フッ化物応用なし (Control) の 5 群に設定し、予防処置後再石灰化溶液 (Ca:3 mM, P:1.8 mM, pH7.3) に 1 時間浸漬、脱灰溶液 (Ca:3 mM, P:1.8 mM, pH4.5) に 6 時間浸漬を 1 サイクルとするアシッドチャレンジを 4 サイクル実施した。歯質表層の性状は走査型電子顕微鏡観察、3D 測定レーザー顕微鏡による高低差および算術平均粗さ (Sa), X 線光電子分光法 (XPS) を用いて評価した。ミネラル喪失量 (デルタ Z, vol%  $\mu\text{m}$ ) および脱灰深度 (Ld,  $\mu\text{m}$ ) はコンタクトマイクロラジオグラフィ (CMR) にて定量化した。アシッドチャレンジ後、Control 群は  $33.636 \pm 2.962 \mu\text{m}$  の実質欠損が生じ、NaF 群は  $1.895 \pm 0.875 \mu\text{m}$ , APF 群は  $1.172 \pm 0.594 \mu\text{m}$  と有意に脱灰が抑制された ( $p < 0.01$ )。MFP 群は  $5.633 \pm 2.129 \mu\text{m}$ , AP-MFP 群は  $4.206 \pm 0.785 \mu\text{m}$  と Control 群と比較して有意に脱灰を抑制していたが APF 群には及ばなかった。また表層の XPS 解析によるフッ化物イオン (F1s) 定量では AP-MFP 群が APF 群とほぼ同等量のフッ化物イオンをエナメル表層に維持できることが明らかとなった。AP-MFP 法の耐酸性は APF 法には及ばないものの、表層のみではなく深部に作用が可能であり、表層に APF 群と同等のフッ化物イオンを保持できる優れた性質を持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。

### Improvement of acid resistance of enamel by acid monofluorophosphate sodium fluoride application

○Satou R, Iwasaki M, Sugihara N  
Dept Publ Health, Tokyo Dent Coll

The purpose of this study is to develop a new fluoride application method by taking advantage of the high biosafety of MFP and the ability to respond to deep teeth layer. In addition, the enamel acid resistance after application of the new method was compared with that of the conventional method (NaF and APF). As a result of SEM observation, 3D laser microscopy, contact microradiography and surface XPS analysis, it was confirmed that the treatment of the MFP group and the AP-MFP group improved the acid resistance of the enamel as in the conventional method. Furthermore, it was clarified that the acid resistance of high-concentration MFPs can be improved qualitatively and quantitatively by making them acidic with phosphoric acid. Although the acid resistance of the AP-MFP method is not as good as that of the APF method, it was possible to act not only on the surface layer of the enamel but also in the deep part. It was revealed that AP-MFP has an excellent property of retaining fluoride ions equivalent to APF on the surface layer of teeth.

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



---

## 2-O1-D2 バイオアパタイト歯面塗布法による象牙質耐酸性の検討

---

○岩崎 美友, 佐藤 涼一, 杉原 直樹

東歯大 衛生

【目的】近年、高齢者の残存歯の増加や歯周病による歯肉退縮などで根面齲蝕の増加が問題となっている。根面齲蝕の予防には高濃度のフッ化物歯面塗布が有効と報告されているが、象牙質に最適化された予防法は確立されていない。本研究の目的は、生体親和性の高い新素材のバイオアパタイト(BioHap)に着目し、フッ化物歯面塗布と併用した新規予防法の開発の検討と従来法との象牙質耐酸性評価とした。【方法】本研究は牛歯歯頸部唇側象牙質ブロックを試料とした。処理はフッ化物応用なしのControl群、APF処理のAPF群、リン酸ジェルを加えたBioHapとAPFを塗布したBioHap群で実施した。処理後、再石灰化溶液(pH7.3)に1時間、脱灰ジェル(pH5.0)に24時間浸漬した。3Dレーザー顕微鏡で段差量測定とMicro-Vickers硬度試験機で硬度(HV)測定を行った。表面と断面の性状観察はSEMを用いた。CMRによる脱灰深度(Ld)とミネラル喪失量( $\Delta Z$ )の測定を行った。【結果・結論】段差量測定の結果、Control群は $1.82 \pm 0.03 \mu\text{m}$ 、APF群は $0.92 \pm 0.02 \mu\text{m}$ 、BioHap群は $0.45 \pm 0.04 \mu\text{m}$ と各群間に有意差を認めた( $p < 0.05$ )。HV測定の結果、Control群は $35.49 \pm 2.96\text{HV}$ 、APF群は $42.35 \pm 3.85\text{HV}$ 、BioHap群は $51.70 \pm 2.86\text{HV}$ と各群間に有意差を認めた( $p < 0.05$ )。Ld測定の結果、Control群は $65.40 \pm 7.97 \mu\text{m}$ 、APF群は $57.02 \pm 7.25 \mu\text{m}$ 、BioHap群は $40.47 \pm 2.87 \mu\text{m}$ であった。Control群とBioHap群間およびAPF群とBioHap群間に有意差を認めた( $p < 0.05$ )が、Control群とAPF群間には有意差を認めなかった。 $\Delta Z$ 測定の結果、Control群は $5635.14 \pm 387.00 \text{ vol}\% \times \mu\text{m}$ 、APF群は $5075.75 \pm 298.69 \text{ vol}\% \times \mu\text{m}$ 、BioHap群は $4723.86 \pm 238.58 \text{ vol}\% \times \mu\text{m}$ であった。Control群とAPF群間およびControl群とBioHap群間に有意差を認めた( $p < 0.05$ )が、APF群とBioHap群間には有意差を認めなかった。新規予防法は象牙質の脱灰を抑制し、従来法と同様に象牙質耐酸性を向上させることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Effect of dentin acid resistance by topical fluoride application with nano-sized alpha-tricalcium phosphate

---

○Iwasaki M, Satou R, Sugihara N

Dept Publ Health, Tokyo Dent Coll

In recent years, the increase in root surface caries has become a problem due to the increase in remaining teeth in the elderly and gingival recession caused by periodontal disease. The prevention of root surface caries has proven to be helpful in topical fluoride application. However, this appropriate method for dentin has not yet been established. In this study, we focus on Bioapatite (BioHap), which is the new high biocompatible material. The aim of this study was to study the development of a new topical fluoride application by using BioHap. This method was also examined effects of dentin acid resistance compared to APF. In conclusion, our findings were suggested that our new method inhibited dentin demineralization, improves the acid resistance of dentin as well as APF.

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

---



## 2-O1-D3 エナメル質形成不全症様を呈す *Amelx-tdTomato* マウス及び象牙質形成不全症様を呈す *Dspp-GFP* マウスの象牙質の性状解析

○磯野 加奈, 松山 加乃, 山崎 英俊

三重大 院医 幹細胞

これまで、我々は、エナメル芽細胞や象牙芽細胞を蛍光を指標に同定、単離する目的で *Amelx* 及び *Dspp* の遺伝子座に赤色或は緑色蛍光蛋白遺伝子を挿入した遺伝子組換えマウス *Amelx<sup>tdTomato</sup>* マウスと *Dspp<sup>GFP</sup>* マウスを作成した。 *Amelx<sup>tdTomato</sup>* ♂マウスは AMELX タンパクを欠損し、エナメル質形成不全症様を示す。一方、 *Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* マウスは DSPP タンパクを欠損し、象牙質形成不全症様を呈した。さらに、両者を交配した同一個体で象牙芽細胞とエナメル芽細胞を別蛍光で標識できる *Amelx<sup>tdTomato</sup>; Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* ♂マウスは、AMELX タンパクと DSPP タンパクの両者を欠損し、象牙質とエナメル質に異常があることがわかった。特に、 *Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* マウスの歯では正常に比べ石灰化度が低い象牙質が増えていた。これらの理由を明らかにするために、まず離乳前のマウスと3ヶ月齢のマウスの前歯と臼歯における様々なデンチンマトリックス蛋白やエナメルマトリックス蛋白の発現を調べた。興味深いことに、骨マトリックス蛋白の一つである Bone sialoprotein (BSP) の発現は離乳前の *Amelx<sup>tdTomato</sup>* ♂マウス及び *Amelx<sup>tdTomato</sup>; Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* ♂マウスの前歯の象牙質で、3ヶ月齢では *Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* マウス、 *Amelx<sup>tdTomato</sup>* ♂マウス及び *Amelx<sup>tdTomato</sup>; Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* ♂マウスの前歯の象牙質で上昇していた。さらに、3ヶ月齢の *Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* マウス及び *Amelx<sup>tdTomato</sup>; Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* ♂マウスの前歯の象牙質でエナメルマトリックス蛋白も上昇していた。以上、我々の結果より、AMELX あるいは DSPP の欠損により象牙質の石灰化異常が現れた場合、それらを改善するために象牙芽細胞で主に骨マトリックス蛋白の発現が誘導されるが、DSPP の欠損による象牙質の石灰化異常では加齢に伴い骨マトリックス蛋白のみならずエナメルマトリックスタンパクの産生も誘導される可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

### Analysis of dentin properties of *Amelx-tdTomato* mice with enamel dysplasia-like phenotype and *Dspp-GFP* mice with dentin dysplasia-like phenotype

○Isono K, Matsuyama K, Yamazaki H

Dept Stem Cell Develop Biol, Mie Univ Grad Sch Med

Previously, we established *Amelx-tdTomato* Knock-in mice and *Dspp-GFP* Knock-in mice. *Amelx<sup>tdTomato</sup>* male mice lack AMELX and exhibit enamel dysplasia-like phenotype, whereas *Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* mice lack DSPP and exhibit dentin dysplasia-like phenotype. *Amelx<sup>tdTomato</sup>; Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* mice lack AMELX and DSPP, indicating that both dentin and enamel are affected. Especially, *Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* mice have lower mineralized dentin than wild-type mice. To clarify the reasons, we examined the expression of various dentin matrix proteins and enamel matrix proteins in the teeth of pre-weaned and 3-month-old mice. Interestingly, the expression of BSP was elevated in the dentin matrix of incisors in pre-weaned *Amelx<sup>tdTomato</sup>* male mice and *Amelx<sup>tdTomato</sup>; Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* male mice, and at 3 months of age in the dentin matrix of incisors in *Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* mice, *Amelx<sup>tdTomato</sup>* male mice and *Amelx<sup>tdTomato</sup>; Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* male mice. Furthermore, the expression of enamel matrix proteins were detected in the dentin matrix of incisors in 3-month-old *Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* mice and *Amelx<sup>tdTomato</sup>; Dspp<sup>GFP/GFP</sup>* male mice. Our results suggest that abnormality of dentin mineralization by loss of AMELX or DSPP mainly induces the expression of bone matrix proteins to ameliorate the abnormalities and abnormality of dentin mineralization by loss of DSPP induces bone matrix proteins and enamel matrix proteins produced by odontoblasts with age.

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

---

## 2-O1-D4 Intraflagellar transport protein 88 による象牙芽前駆細胞増殖制御機構

---

○河田かずみ<sup>1</sup>, 青山絵理子<sup>2</sup>, 久保田 聡<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 口腔生化, <sup>2</sup>岡大 歯 先端領域研究セ

---

Intraflagellar transport protein 88 (IFT88)は、細胞周期停止期に細胞外環境感知センサーとして機能する一次繊毛形成に関与することが知られている。この IFT88 は、細胞増殖期にも機能を持ち、G1 期から S 期へ細胞周期の移行を抑制することが、近年、子宮頸部がん由来細胞株 HeLa 細胞で明らかとなった。しかしながら、象牙芽前駆細胞増殖における IFT88 の機能に関しては研究が進んでいないため、今回、我々は、これについて検討を行った。

レンチウイルスベクターシステムを用いて、乳がん細胞由来細胞株 MRMT-1 細胞と象牙芽前駆細胞株 KN-3 細胞において *Ift88* のノックダウンを行い、sh-*Ift88* MRMT-1 細胞と sh-*Ift88* KN-3 細胞を作製した。それらの細胞増殖速度を検討した結果、sh-*Ift88* MRMT-1 細胞では、現在までの報告通り細胞増殖速度は促進されていたが、sh-*Ift88* KN-3 細胞ではそれは抑制されていた。そこで、細胞増殖制御機構のひとつとして知られている Hippo 経路の転写共役因子である Yes-associated protein (YAP)の核内移行を、ArrayScan VTI HCS Reader (Thermo Fisher Scientific Inc)を用いて、KN-3 細胞と MRMT-1 細胞とで比較、検討を行った。その結果、sh-*Ift88* MRMT-1 細胞においては、YAP が核移行する細胞数は増加したが、sh-*Ift88* KN-3 細胞では YAP が核移行する細胞数は増加と減少の二極性を示した。YAP の標的遺伝子の発現レベルは、sh-*Ift88* MRMT-1 細胞では YAP の核内移行量と一致して増加していた。一方、sh-*Ift88* KN-3 細胞においては減少しており、YAP による転写活性化が抑制されている可能性が示唆された。

これらのことより、KN-3 細胞における IFT88 の細胞増殖制御機構には、現在までの報告と異なる特異的なメカニズムが存在することが考えられる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### The role of intraflagellar transport protein 88 in pre-odontoblastic proliferation

---

○Kawata K<sup>1</sup>, Aoyama E<sup>2</sup>, Kubota S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med, Dent Pharm Sci, <sup>2</sup>Okayama Univ, Dent Sch, ARCOCS

---

Intraflagellar transport protein 88 (IFT88) regulates primary cilia (extracellular environment sensors) formation during cellular quiescence and also cell cycle progression during proliferation. Here, we investigated the regulation of pre-odontoblast proliferation via IFT88, which remained unknown.

*Ift88* was knocked-down in breast cancer MRMT-1 (sh-*Ift88* MRMT-1) cells and pre-odontoblastic KN-3 (sh-*Ift88* KN-3) cells using a lentiviral vector system. The sh-*Ift88* MRMT-1 cell proliferation was promoted compared to the control as shown in previous studies, whereas sh-*Ift88* KN-3 cells proliferation was suppressed. Therefore, we examined the nuclear translocation of Yes-associated protein (YAP), a transcriptional coactivator of Hippo pathway that regulates cell proliferation in those cells using ArrayScan VTI HCS Reader (Thermo Fisher). As a result, number of sh-*Ift88* MRMT-1 cells with nuclear YAP increased compared to the control. However, number of sh-*Ift88* KN-3 cells with/without nuclear YAP both increased. YAP target genes expression levels increased in sh-*Ift88* MRMT-1 cells compared to control, in agreement with the number of cells with nuclear YAP but decreased in sh-*Ift88* KN-3 cells. This result suggests that transcriptional activation by YAP was suppressed in KN-3.

These findings indicate a unique cell proliferation regulatory mechanism via IFT88 in KN-3 cells.

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

---

---

## 2-O1-D5 ヒト由来 iPS 細胞を用いた象牙芽細胞への分化誘導

---

○野添 彬, 宮川 和晃, 中野 知帆, 田中 晋  
阪大 院歯 口外 1

【目的】疾患特異的な iPS 細胞の作成は希少疾患の病態解明や新薬開発への応用が期待されている。現在、硬組織に対する iPS 細胞の利用について骨芽細胞様細胞への誘導法は確立されつつあるが、一方で象牙芽細胞などの歯の構成細胞に対する確立された誘導法はない。そこで、象牙質形成不全症を伴う患者由来の疾患 iPS 細胞研究の研究基盤の形成を目的として、今回われわれは健常者由来 iPS 細胞から神経堤細胞を経由した象牙芽細胞様細胞の誘導を試みた。【方法】阪大学医学系研究科・倫理審査委員会にて承認を得たプロトコール (10196 (775-2)-3) に従い、健常者より採取された線維芽細胞由来の iPS 細胞から神経堤細胞を経由して分化した間葉系幹細胞 (MSC) を用いて象牙芽細胞様細胞 (ODs) への誘導を行った。一定期間誘導したのちに遺伝子発現を定量的 PCR で、タンパク質発現をウェスタンブロッティング法、石灰化の評価をアリザリンレッド染色で評価した。また、同一の iPS 細胞を以前に確立した方法 (Nakano et al., Mol. Genet. Metab., 2019) によって誘導した骨芽細胞様細胞 (OBs) を比較として用いた。【結果】ODs と OBs は誘導開始から経時的に *ALPL* や *COL1A1* の遺伝子発現量の増加を認めた。象牙芽細胞にて高発現が認められる *NES* 遺伝子は、特に ODs への誘導初期 (誘導 7 日目) において OBs よりも高値だった。タンパク質発現解析でも ODs における Nestin は遺伝子発現と同様に OBs と比較して誘導初期で高値であり、さらに DSPP も ODs への誘導初期にて発現の増加を認めた。アリザリンレッド染色では、OBs は分化誘導から 14 日目までに、ODs では分化開始から 14 日から 21 日で石灰化を認めた。【考察】健常者由来 iPS 細胞から象牙芽細胞の遺伝的特性に近似した細胞を誘導することに成功した。本研究の結果は疾患 iPS 細胞を用いた象牙芽細胞形成不全の解明に役立つことが期待される。【共同研究者】阪大学医学系研究科小児科学 大藪恵一, 窪田拓生  
【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Induction of differentiation into odontoblasts using human-derived iPS cells

---

○Nozoe A, Miyagawa K, Nakano C, Tanaka S  
1st Dept OMFS, Osaka Univ Grad Sch Dent

[Purpose] The aim of forming a research base for iPS cell research on patient-derived diseases associated with dentin dysplasia, we attempted to induce odontoblast-like cells from healthy human-derived iPS cells via ridge cells. [Method] Neural crest cells from fibroblast-derived iPS cells collected from healthy subjects according to the protocol. Induction into odontoblast-like cells (ODs) was performed using mesenchymal stem cells (MSC) differentiated via. After induction for a certain period of time, gene expression was evaluated by quantitative PCR, protein expression was evaluated by Western blotting, and calcification was evaluated by alizarin red staining. [Results] ODs and OBs showed an increase in *ALPL* and *COL1A1* gene expression levels over time from the start of induction. *NES*, which is highly expressed in odontoblasts, was higher than OBs, especially in the early stage of induction to ODs. Nestin in ODs was higher than OBs in the early stage of induction as well as gene expression, and DSPP also showed an increase in expression in the early stage of induction to ODs. Alizarin red staining showed calcification of OBs and ODs. [Discussion] We succeeded in inducing cells similar to the genetic characteristics of odontoblasts from iPS cells derived from healthy subjects.

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

---

---

## 2-O2-D1 エナメル上皮細胞分化におけるオートファジーの役割

---

○依田 浩子<sup>1</sup>, 大津 圭史<sup>2</sup>, 原田 英光<sup>2</sup>, 大島 勇人<sup>1</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 硬組織形態, <sup>2</sup>岩医大 解剖 発生再生

【目的】オートファジーは細胞内分解経路の一つで、ストレス応答、細胞増殖、シグナル伝達や転写制御など多彩な生理機能に関与し、細胞の恒常性維持に働いていることが明らかになりつつある。そこで、エナメル上皮細胞の幹細胞性維持、増殖および分化におけるオートファジーの役割を解明する目的で、上皮特異的オートファジー不全マウス(K14cre: Atg7 f/f マウス)を作成して解析した。【方法】生後1日齢から1年6ヶ月齢の正常およびK14cre: Atg7 f/f マウスの切歯について、形態学的ならびに遺伝子解析を行った。さらに、エナメル上皮細胞株およびマウス切歯器官培養系を用いて、オートファジー阻害剤によるエナメル上皮細胞への影響について解析した。【結果と考察】若齢K14cre: Atg7 f/f マウスではエナメル上皮細胞に顕著な変化は認められなかったものの、EPMA解析にてエナメル質表層の高石灰化帯の菲薄化とミネラル沈着の低下が確認された。加齢に伴いエナメル上皮幹細胞領域である切歯形成端の構造が不規則化し、老齢K14cre: Atg7 f/f マウスでは歯牙腫の形成が確認された。In vitro 実験では、オートファジー阻害剤によりエナメル上皮幹細胞マーカーであるSox2遺伝子の発現低下と細胞増殖の低下が認められた。さらに、細胞周期制御因子であるp21の発現亢進ならびにプロモータ領域のメチル化低下が確認された。以上より、オートファジーがエナメル上皮幹細胞性維持ならびに細胞増殖・分化の制御に重要であり、その異常が歯原性上皮細胞の腫瘍化に関与してい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。

---

### Role of autophagy in ameloblast differentiation

---

○Ida-Yonemochi H<sup>1</sup>, Otsu K<sup>2</sup>, Harada H<sup>2</sup>, Ohshima H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup>Div Dev Bio Reg Med, Iwate Med Univ Sch Dent

Autophagy is one of the intercellular degradation pathways and maintains cellular homeostasis regulating stress response, cell proliferation, signal transduction and transcriptional control. To elucidate the role of autophagy in ameloblast differentiation, we analyzed the autophagy deficient mice in epithelial cells (K14cre: Atg7 f/f mice). We also performed in vitro cell and organ culture experiments with autophagy inhibitor. In young K14cre: Atg7 f/f mice, the morphological change of ameloblasts was not obvious in maxillary incisor. However, the apical bud region of incisor became irregular in shape with age, and odontoma formation was observed in aged K14cre: Atg7 f/f mice. In vitro, autophagy inhibitor suppressed cell proliferation and Sox2 expression in ameloblast-lineage cells. In addition, the epigenetic change and upregulation of p21 were induced by autophagy inhibition. These findings suggest that autophagy is important for the regulation of stem cell maintenance, proliferation and differentiation in ameloblast-lineage cells, and the disorder of autophagy might cause tumorigenesis in odontogenic epithelial cells.

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

---



---

## 2-O2-D2 The interaction between osteopontin and stem/progenitor cells determines the pulpal healing following tooth replantation in mice

---

○Quispe-Salcedo Angela<sup>1</sup>, Suzuki Kiyoko<sup>1</sup>, 中富 満城<sup>2</sup>, 依田 浩子<sup>1</sup>, 大島 勇人<sup>1</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 顎顔面再建 硬組織形態, <sup>2</sup>産業医大 産業保健

---

## The interaction between osteopontin and stem/progenitor cells determines the pulpal healing following tooth replantation in mice

---

○Quispe-Salcedo A<sup>1</sup>, Suzuki-Barrera K<sup>1</sup>, Nakatomi M<sup>2</sup>, Ida-Yonemochi H<sup>1</sup>, Ohshima H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup>Dept Human, Information and Life Sci, Sch Health Sci, Univ of Occupational and Environmental Health

---

**Aim:** Severe injuries elicit a series of complex events in the dental pulp leading to tertiary dentin formation mainly by newly-differentiated odontoblast-like cells. Osteopontin (OPN) has an essential role for type I collagen secretion during reparative dentin formation after cavity preparation. This study aims to clarify the interaction between OPN on the dynamics of label-retaining cells (LRCs) following tooth replantation using transgenic mice. **Materials and Methods:** Immediate tooth replantation was performed in the first maxillary molars of 2- and 3-week-old WT, *Opn* knockout (KO) mice, and prenatally doxycycline-injected Tet-OP-H2B-GFP mice. Samples were collected at 1, 3, 5, 7, and 14 days after operation, processed for hematoxylin-eosin staining, and evaluated by immunohistochemistry for OPN, Nestin, and GFP at each observation stage. **Results:** The number of GFP-positive-cells (LRCs) and the percentage of cell density significantly decreased from days 1 to 7 in the coronal pulp of 2-week-old-Tet-OP-H2B-GFP mice, while no changes were observed in the root pulp. Reparative dentin was observed in the root pulp 7 days after tooth replantation in these mice, as well in the 2-week-old-*Opn* KO and -WT mice. Nevertheless, 3-week-old-*Opn* KO mice showed inflammatory reactions and low rates of tertiary dentin formation at the same timepoint. **Conclusions:** The decrease in number of LRCs in the coronal pulp suggests the migration of numerous stem/progenitor cells from apical papilla (SCAP) to contribute to the odontoblast-like cell differentiation process, which may be influenced by OPN, according to the stage of tooth development. Migrated SCAP cells remain in the root pulp as a source of stemness during the whole healing process

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

---



---

## 2-O2-D3 赤外イメージングおよび赤外二色性イメージングによるテトラサイクリン変色歯の評価

---

○中村 郁哉, 木村-須田 廣美

公立千歳科技大 院理工

---

[背景]歯の形態形成期に服用したテトラサイクリン系抗生物質は、象牙質を変色させることが知られている。しかし、テトラサイクリン沈着が歯の構造や材質特性に及ぼす影響は明らかとなっていない。我々は、赤外イメージングと赤外二色性イメージングによる骨質(骨の構造と材質特性)評価を行う中で、骨質劣化が骨強度に及ぼす影響を示してきた。そこで本研究では、テトラサイクリン沈着が歯の材質特性に及ぼす影響を明らかにするため、赤外イメージングと赤外二色性イメージングによるテトラサイクリン歯の材質特性評価を行った。[方法]被検歯は14歳時にざ瘡(ニキビ)治療のためテトラサイクリン系抗菌薬(ミノサイクリン塩酸塩)を内服した22歳の女性患者と服用歴のない患者から頬側転位のため抜去した第3大臼歯を用いた。ヒト正常第3大臼歯およびテトラサイクリン変色歯を頬-口蓋側方向に切断し、断面の表面研磨を施した。材質特性評価には赤外イメージング、赤外二色性イメージングを用いて石灰化度、炭酸塩含有率、結晶化度、ミネラル成熟度、コラーゲン線維配向性ならびに低結晶性アパタイト配向性を比較検討した。[結果・考察]切断面においてテトラサイクリン歯の象牙質では歯根側約1/2に限局した変色を確認した。赤外イメージングによる評価では変色部の石灰化度、結晶化度の低下が確認された。また、同部位における低結晶性アパタイト配向性は、正常第3大臼歯と比較して頬-口蓋側方向に強い配向を示した。一方、正常第3大臼歯のコラーゲン線維は歯髄から放射状に配向を示し、テトラサイクリン変色歯でも際立った配向変化は認められなかった。以上のことから、歯の歯根形成期におけるテトラサイクリン沈着はアパタイトの結晶成長に影響を及ぼしている可能性が示された。[会員外共同研究者]:横関 健治, 村田 勝(北医療大 歯), 東藤 正浩(北大 工), 赤澤 敏之(道総研)

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Assessment of tetracycline-stained teeth using FTIR imaging and IR dichroism imaging

---

○Nakamura F, Kimura-Suda H

Dept Sci Tech, Chitose Inst Sci Tech Grad Sch of Sci Tech

---

It's well known that internal use of tetracycline antibiotics discolor dentin during tooth development. However, the changes in the structural and material properties of the discolored teeth due to the deposition of tetracycline have not been elucidated. We have previously evaluated bone quality using FTIR imaging and IR dichroism imaging and showed that the changes in bone quality (structural and material properties of bone) affected the bone strength (mechanical properties of bone). In this study, we assessed structural and material properties of a third molar removed from a 22-year-old female patient who took a tetracycline antibiotic (minocycline hydrochloride) for the treatment of acne at the age of 14 using FTIR imaging and IR dichroism imaging. In the dentin of the third molar stained with tetracycline, discoloration to about 1/2 of the root side was observed. FTIR images showed that the mineral-to-matrix ratio and crystallinity in the discolored area were lower than those in the uncolored area, and IR dichroism images showed that the poorly crystalline apatite in discolored area tended to be oriented in the buccal-palatal direction. These results indicated that the deposition of tetracycline during tooth development might affect the apatite crystal growth.

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

---

---

## 2-O2-D4 人工知能による歯種鑑別：下顎小白歯と下顎大白歯

---

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

<sup>1</sup>日大松戸歯 解剖, <sup>2</sup>日大 理工

【目的】人工知能 (AI) を歯科医学に応用するための基礎研究として, ディープラーニング (DL) を用いた歯種鑑別モデルを構築した. 下顎中切歯と下顎大白歯の鑑別モデルはすでに完成しているので, 下顎小白歯を鑑別するモデルと下顎大白歯を鑑別するモデルの構築を試みた. 【材料と方法】日大 松戸歯学生 (男性 12 名, 女性 12 名) の上下顎歯列石膏模型を用いて, 静止画像を作成した. 対象とした歯種は, 下顎左右側の第一小白歯, 第二小白歯, 第一大白歯, 第二大白歯である. 各歯種について, 単独の歯の石膏模型を作成し, 隣接歯を含まない咬合面画像を作成した. 実験 1 では下顎左右側の小白歯の鑑別を行い, 実験 2 では下顎左右側の大白歯の鑑別を行った. 隠れ層 32 を含む畳み込みニューラルネットワーク (CNN) を用い, アーキテクチャとして AlexNet を用い, 学習方法として確率的勾配降下法 (SGD) を用いた. 【結果と考察】以前の実験により, 隣接歯を含まない画像をトレーニングデータとして用いることによって鑑別の精度を向上できることがわかった. したがって今回は隣接歯を含まない画像データのみを用いて実験を行った. その結果, 鑑別の精度を以前よりも向上することができた. さらに, 下顎大白歯の鑑別を試験的に行った. 今後は幾何学的形態測定学の結果を参考にして, 鑑別に適した歯の部位を選択的に学習させることにより精度の向上を目指す.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

### Application of artificial intelligence to dental science: Mandibular premolars and mandibular molars

---

○Igarashi Y<sup>1</sup>, Kondo S<sup>1</sup>, Aibara M<sup>2</sup>, Kaneko M<sup>2</sup>, Uchikoba F<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>2</sup>Dept Precision Machinery Engineering, Nihon Univ Coll of Sci and Technol

Purpose: As basic research for applying artificial intelligence (AI) to dentistry, we constructed a tooth identification model using deep learning (DL). Since a model for identifying mandibular central incisors and mandibular first molars has already been completed, we attempted to construct a model for identifying mandibular premolars and mandibular molars, respectively. Materials and Methods: Plaster cast of the upper and lower jaws of the dental students (12 males and 12 females) were used to create still images. The target tooth types were the first premolars, second premolars, first molars, and second molars on the left and right sides of the mandible. For each tooth type, a plaster cast of a single tooth was made, and an image of the occlusal surface without adjacent teeth was created. By Learning model 1, the premolars were identified, and By Learning model 2, the molars were identified. Results and Discussion: We were able to improve the accuracy of identification. In the future, we aim to improve the accuracy by using the results of geometric morphometrics to selectively learn the appropriate tooth sites for identification. Conflict of Interest: We are not in a conflict of interest situation.

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

---

## 2-O3-E1 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<sup>1</sup>, 吹田 憲治<sup>2</sup>, 松尾 一朗<sup>1</sup>, 伊藤 愛子<sup>3</sup>, 清本 賢一<sup>1</sup>, 角田 通則<sup>1</sup>, 成山明具美<sup>4</sup>, 大貫 芳樹<sup>2</sup>, 五味 一博<sup>1</sup>, 奥村 敏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 歯周病, <sup>2</sup>鶴大 歯 生理, <sup>3</sup>鶴大 歯 矯正, <sup>4</sup>鶴大 歯 小児歯

【目的】歯周病と心疾患の関連性については1世紀以上まえから指摘されているが、その詳細なメカニズムに関する研究は不十分である。申請者らは *Porphyromonas gingivalis* 由来リポポリサッカライド(PG-LPS)を投与して作成した歯周病マウスモデルの解析を行ったところ、PG-LPS 投与マウスでは心機能障害がみられ、そのメカニズムの1つとして酸化ストレスが原因であることを明らかにした(PloS One 2022 in press)。以上の研究成果をもとに本研究では、高尿酸血症の治療薬として長年利用され安全性が確認されているキサンチンオキシダーゼ阻害薬であるアロプリノール(ALLO)の歯周病に起因する心疾患に対するアロプリノールの予防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:ip)投与群(LPS 群), 3)ALLO 投与群(50 mg/kg/day:飲水投与), 4)LPS とアロプリノールの併用投与群(LPS + ALLO 群)を作成した。LPS 投与を7日間連続投与後、心エコーにて心機能測定した。心機能測定後に心臓を摘出し各臓器重量の測定と組織学的解析を行った。【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ていた。まお心重量は各群間で有意差はなかった。Masson-trichrome 染色による心筋線維化はLPS 群では有意に増加したが、LPS + ALLO 群ではそれらの増加は有意に抑制された。【結論】PG-LPS の投与による心機能低下ならびに心臓線維化はALLO の併用投与により抑制された。以上の結果よりアロプリノールは歯周病に起因する心疾患発症に対する予防効果が示唆された。

【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

○Morii A<sup>1</sup>, Suita K<sup>2</sup>, Matsuo I<sup>1</sup>, Ito A<sup>3</sup>, Kiyomoto K<sup>1</sup>, Tsunoda M<sup>1</sup>, Nariyama M<sup>4</sup>, Ohnuki Y<sup>2</sup>, Gomi K<sup>1</sup>, Okumura S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Periodont, <sup>2</sup>Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Physiol, <sup>3</sup>Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Orthodont, <sup>4</sup>Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Pediatr Dent

Periodontitis (PD) is known 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) might 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 < 0.05). Myocardial fibrosis by Masson-trichrome staining was significantly increased in the PG-LPS-treated group (P < 0.05), but these increases were significantly suppressed in the PG-LPS + allopurinol-treated groups (P < 0.05). 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.

## 2-O3-E2 YAP/TAZ メカノシグナルは間葉系幹細胞の細胞保護因子産生能を制御する

○吉井 寛毅<sup>1</sup>, 加治屋幹人<sup>1,2</sup>, 吉野 舞<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 広島 院医歯薬保 歯周, <sup>2</sup> 広島 病院歯 口腔先端治療開発

【目的】 間葉系幹細胞(Mesenchymal stem cells (MSCs))は自己複製能と骨・軟骨・脂肪細胞など多分化能を有する細胞であるため、生体から分離・培養し、移植する再生医療に大きな期待を集めてきた。一方、MSCsは多分化能のみならず、細胞保護因子を放出することで、自己免疫疾患や炎症性組織破壊疾患に対する細胞治療薬として注目を集めている。一方、MSCsの細胞分化は場の硬さ等の細胞外微小環境を生化学的な信号に変換して感知するYAP/TAZメカノシグナルにより制御されることが知られているが、このYAP/TAZメカノシグナルがMSCsの細胞保護因子産生能に影響するかは検証されていない。そこで、本研究では、MSCsによる細胞保護効果の分子メカニズムをより詳細に理解するために、YAP/TAZメカノシグナルのMSCsの細胞保護因子産生への影響を明らかにすることを目的とした。【方法】 ヒト骨髄MSCsを、YAP/TAZメカノシグナル活性が低下するとされる微小環境として、軟らかいゲル上(2kpa)・浮遊状態・高密度状態、もしくはF-actin重合阻害添加して培養した。また、YAP/TAZ siRNAを導入し培養した。さらにTNF- $\alpha$ 刺激も加え、細胞保護分泌因子TSG-6mRNA発現をqPCRで定量した。次にYAP/TAZ siRNA導入MSCsとT細胞の共培養、あるいはその培養上清を用いてTHP1マクロファージを培養し、T細胞の活性化抑制・M1マクロファージ分化抑制をFACS/ELISA/qPCRにて評価した。【結果】 YAP/TAZメカノシグナルを阻害されたMSCsにおいて、細胞保護因子TSG-6mRNA発現が亢進し、TNF- $\alpha$ 刺激に対するTSG-6mRNA発現は相乗的に増加した。また、YAP/TAZ活性を減弱させたMSCsは、T細胞の活性化抑制、M1マクロファージ分化抑制した。【結論】 YAP/TAZメカノシグナルがMSCsの細胞保護因子産生能を負に制御している可能性が示唆された。今後、この知見を利用した、より効果的なMSCs細胞治療法の開発につながると期待できる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

## YAP/TAZ mechanosignaling regulates cytoprotective factors production in mesenchymal stem cells

○Yoshii H<sup>1</sup>, Kajiyama M<sup>1,2</sup>, Yoshino M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Periodontal Med, Hiroshima Univ Grad Sch of Biomed Health Sci, <sup>2</sup>Dept Innovation & Precision Dent, Hiroshima Univ Hosp Dent

Aim; Mesenchymal stem cells (MSCs) have attracted medical attention due to their multipotency and self-renewing property. Besides, MSCs exert anti-inflammatory/immunomodulatory functions by producing cytoprotective cytokines such as TSG-6. Recently, F-actin and YAP/TAZ have been recognized as key players in the mechanotransduction cascade, controlling cell lineage commitment in MSCs. However, it is unclear whether YAP/TAZ mechanosignaling affects anti-inflammatory/immunomodulatory capacities of MSCs. Thus, this present study aimed to investigate the role of YAP/TAZ in cytoprotective factors production in MSCs. Methods; Human bone marrow-derived MSCs were cultured with YAP/TAZ disrupting conditions, including soft gel, floating culture, high cell density, or F-actin polymerization inhibitors. YAP/TAZ siRNAs were transfected into MSCs. Then, TSG-6 mRNA expression levels were quantified by qPCR. The culture supernatant of YAP/TAZ siRNA-treated MSCs was applied to THP1 macrophage culture. MSCs were co-cultured with T cells. M1 macrophage differentiation and T cell proliferation were assessed. Results; Disruption of YAP/TAZ signaling facilitated TSG-6 mRNA expression in MSCs, and the elevation was strengthened by TNF- $\alpha$  stimulation. MSCs transfected with YAP/TAZ siRNA or those culture supernatant inhibited T cell activity and M1 macrophage differentiation, respectively. Discussion; YAP/TAZ mechanosignaling may negatively regulate MSCs anti-inflammatory/immunomodulatory function. Controlling the YAP/TAZ signaling will develop novel MSCs cell therapy. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.



---

## 2-O3-E3 18kDa Translocator protein (TSPO) の T 細胞依存的免疫応答における役割解析

---

○千代 侑香<sup>1</sup>, 一戸 達也<sup>1</sup>, 東 俊文<sup>2</sup>, 大野 建州<sup>3</sup>

<sup>1</sup>東歯大 麻酔, <sup>2</sup>東歯大 生化, <sup>3</sup>東歯大 口腔科学セ

---

**【目的】** 18kDa Translocator protein (TSPO)は末梢型ベンゾジアゼピン受容体としても知られている輸送タンパク質である。TSPOは多様な細胞に発現しており、おもにミトコンドリア外膜に発現し、ステロイド生合成促進、コレステロール輸送、アポトーシス誘導などに関与している。TSPOは免疫細胞にも発現が認められるが、その機能に関する報告の多くがマクロファージを中心とした自然免疫応答の抑制に関するものであり、T細胞依存的な獲得免疫応答に関するものは少ない。本研究では、T細胞応答におけるTSPOの役割を明らかにすることを目的とした。**【方法、結果、考察】** T細胞依存的に誘導される炎症モデルであるDNFBハプテン誘導性の接触型過敏症マウスモデルにおいて、腹部皮膚へのDNFB感作時に、TSPO合成リガンドであるRo5-4864を腹腔内投与した。その後、耳介皮膚へDNFBチャレンジを行い、耳介腫脹を評価した。また、感作時のRo5-4864投与による所属リンパ節中のT細胞活性への影響をフローサイトメトリー法で解析した。さらに、感作時にRo5-4864を投与したマウス由来のT細胞をナイーブマウスに移入し、抗原チャレンジ後の耳介腫脹を評価した。感作時のRo5-4864投与によって耳介腫脹が緩和されるとともに、感作後の所属リンパ節中のT細胞活性は抑制された。また、感作時にRo5-4864投与したマウス由来T細胞の移入は、Ro5-4864非投与マウス由来T細胞の移入と比較して、抗原チャレンジ後の耳介腫脹が緩和された。これらの結果から、TSPOはT細胞応答を負に制御する役割を持つとともに、接触性皮膚炎では感作相のT細胞活性を抑制することにより、その病態を緩和させることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### T cell-dependent regulatory roles of 18-kDa Translocator protein (TSPO)

---

○Sendai Y<sup>1</sup>, Ichinohe T<sup>1</sup>, Azuma T<sup>2</sup>, Ohno T<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup>Dept Biochem, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup>Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll

---

**[Objective]** 18-kDa Translocator protein (TSPO), also known as benzodiazepine receptor is a translocator protein that is localized mainly on the outer mitochondrial membrane. TSPO is abundantly expressed in various types of immune and nonimmune cells. TSPO is involved in diverse cellular function such as steroidogenesis, cholesterol transport, and apoptosis. Thus far, most experimental settings for the roles of TSPO in immune system have demonstrated that TSPO functions in innate immune cell, such as macrophage, mediated immune responses. Here, we examined the effects of TSPO on T cell-dependent immune responses using murine model of allergic skin inflammation. **[Results and Discussion]** Treatment with TSPO agonist, Ro5-4864, at sensitization significantly suppressed ear swelling in DNFB-induced contact hypersensitivity model. In the Ro5-4864-treated mice, the ratios of IFN- $\gamma$  + effector CD4 + T cells and CD8 + T cells in regional lymph nodes were decreased. Adaptive transfer of Ro5-4864-treated sensitized T cells into naive mice enhanced ear swelling after ear challenge. Our results demonstrated that treatment with Ro5-4864 inhibited DNFB-induced contact hypersensitivity, suggesting the regulatory roles of TSPO in T cell-dependent immune responses.

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

---



---

## 2-O3-E4 卵殻由来水酸アパタイトの粘膜免疫賦活作用

---

○瀧澤 智美<sup>1</sup>, 望月 千尋<sup>2</sup>, 齋藤 真規<sup>1</sup>, 桑原 紀子<sup>1</sup>, 小林 良喜<sup>1</sup>, 泉福 英信<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日大松戸歯 感染免疫, <sup>2</sup>株式会社バイオアパタイト

---

粘膜ワクチンは粘膜面および血中に抗原特異的抗体応答を構築でき、粘膜面を介して進入してくる病原体に対する防御効果が期待できる。しかし、粘膜免疫を十分に誘導するためには、抗原と共に免疫応答を増強させるアジュバントが必要がある。また、より効果的で安全なアジュバントが求められる。これまでに、ナノ粒子の水酸アパタイトは全身 IgG 抗体応答を増強するアジュバント効果が示されている。そこで、本研究では、通常廃棄される卵殻から合成したナノサイズの水酸アパタイトを抗原とともにマウスに経鼻免疫し、粘膜免疫が増強されるか検討した。モデル抗原として、*Streptococcus mutans* が分泌する膜小胞 (MVs) を用い、接種量を変えた卵殻由来水酸アパタイトと共にマウスに経鼻免疫した。初回免疫の 3 週間後、5 週間後に追加免疫を行い、最終免疫から 2 週間後に血漿中、唾液中の抗原特異的抗体応答について解析した。その結果、MVs 単独接種グループに比較して水酸アパタイトと MVs の混合液を接種したグループでは、抗原特異的血漿中 IgG 抗体応答が増加した。100  $\mu$ g の水酸アパタイトを用いた場合に抗体の産生レベルが最も高くなった。また、MVs と 100  $\mu$ g の水酸アパタイトの混合液を用いた場合に、唾液中、鼻腔洗浄液中に抗原特異的 IgA 抗体が誘導された。血漿および唾液中に誘導された IgG、IgA 抗体は、MVs に結合しているグルコシルトランスフェラーゼに対して反応性を示した。これらの結果から、卵殻由来水酸アパタイトは共投与抗原に対する全身免疫応答と粘膜免疫応答を賦活化する作用があることが示された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Effect of eggshell-derived hydroxyapatites on enhancement of mucosal immunity

---

○Hashizume-Takizawa T<sup>1</sup>, Mochizuki C<sup>2</sup>, Saito M<sup>1</sup>, Shinozaki-Kuwahara N<sup>1</sup>, Kobayashi R<sup>1</sup>, Sempuku H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>2</sup>BIOAPATITE, INC

---

Mucosal vaccines induce both systemic and mucosal immune responses and are effective for protection of host from pathogens invaded via mucosal surface. In general, mucosal vaccine requires an adjuvant for induction of sufficient mucosal immunity. Since nano-size hydroxyapatites exhibit adjuvant activity, we sought to evaluate the potential of hydroxyapatites synthesized from eggshells as mucosal adjuvant. We nasally immunized mice with membrane vesicles (MVs) from *Streptococcus mutans* as a model antigen plus eggshell-derived hydroxyapatites. As a result, mice immunized with MVs plus eggshell-derived hydroxyapatites induced MVs-specific systemic IgG responses and mucosal IgA responses. While the mice given MVs alone did not elicit robust IgG or IgA responses. We confirmed that the IgG and IgA which were induced in plasma and saliva, respectively, reacted to glycosyltransferases that show antigenicity and are main components of MVs. These results suggest that the eggshell-derived hydroxyapatites have adjuvant activity for enhancement of both of systemic and mucosal immunity.

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

---

## 2-O4-E1 Neutrophil extracellular traps による RANKL 誘導性破骨細胞の分化制御

○沼崎 研人<sup>1,2</sup>, 多田 浩之<sup>1</sup>, 松下 健二<sup>3</sup>, 溝口 到<sup>2</sup>, 菅原 俊二<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大院歯 口腔分子制御, <sup>2</sup>東北大院歯 顎口腔矯正, <sup>3</sup>長寿セ 口腔疾患

【緒言】感染に際して好中球は neutrophil extracellular traps (NETs) を放出し、微生物を捕獲・殺菌する。NETs は好中球の DNA にヒストン、エラスターゼや抗菌ペプチドなどが結合した網状構造物で、細胞外の殺菌を可能にする。他方、過剰な NETs 産生は関節リウマチや歯周病など骨破壊を伴う慢性炎症疾患を増悪させるが、破骨細胞の分化における NETs の役割は明らかにされていない。本研究は、破骨細胞の分化と機能における NETs の影響を検討した。【材料と方法】C57BL/6 (B6) マウス骨髄由来好中球を calcium ionophore で 4 時間処理し NETs を採取した。破骨細胞は、B6 マウス骨髄細胞を 50 ng/mL M-CSF で 3 日間培養し骨髄由来マクロファージ (BMMs) に分化後、50 ng/mL M-CSF および 50 ng/mL RANKL で分化させた。破骨細胞の形成は酒石酸耐性酸フォスファターゼ染色、破骨細胞マーカーの mRNA レベルは RT-qPCR で解析した。骨吸収の活性は、リン酸カルシウムでコーティングしたプレートを用いたピット面積で評価した。【結果】BMMs を RANKL で破骨細胞に分化させる際、NETs で刺激すると分化した破骨細胞数が有意に減少した。また、NETs は NFATc1, cathepsin K, DC-STAMP mRNA 発現を抑制し、破骨細胞の骨吸収活性を減弱させた。しかしながら、NETs 添加による細胞生存率の低下は観察されなかった。【考察】NETs はマクロファージから破骨細胞への分化過程を抑制することが明らかとなった。歯周組織の骨ホメオスタシスにおいて、NETs は過剰な破骨細胞形成を調節する役割を担う可能性が示唆される。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## The functional role of neutrophil extracellular traps in RANKL-induced osteoclastogenesis

○Numazaki K<sup>1,2</sup>, Tada H<sup>1</sup>, Matsushita K<sup>3</sup>, Mizoguchi I<sup>2</sup>, Sugawara S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Div Orthod Dentofac Orthop, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Oral Dis Res, NCGG

**Purpose** NETs are extracellular web-like structures, which contain double-stranded DNA, histones, elastase, and antimicrobial peptide. The contribution of NETs to osteoclastogenesis is uncertain. This study investigated the effect of NETs on the RANKL-induced osteoclastogenesis. **Materials and Methods** Bone marrow-derived neutrophils from C57BL/6 (B6) mice stimulated with calcium ionophore for 4 h. For generation of osteoclasts, bone marrow cells from B6 mice were cultured in the presence of M-CSF for 3 d, differentiated into bone marrow-derived macrophages (BMMs) and then stimulated with NETs in the presence of M-CSF and RANKL. Osteoclast formation was measured by TRAP staining and mRNA levels of osteoclast markers by RT-qPCR. Bone resorption activity was assessed by the pit area using calcium phosphate-coated plates. **Results** During osteoclastogenesis by RANKL, the number of differentiated osteoclasts was significantly decreased in the cells stimulated with NETs. Furthermore, NETs suppressed the mRNA expression of osteoclast markers. Likewise, bone resorption activity was attenuated upon stimulation with NETs. **Conclusion** NETs inhibited the differentiation process from macrophages to osteoclasts. These data indicate that NETs may play a role in regulating excessive osteoclastogenesis in bone homeostasis of periodontal tissue.

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

---

## 2-O4-E2 重度歯周炎患者歯周プラーク構成異常細菌の同定と培養頻出菌投与によるマウス腸炎への影響

---

○池田 恵莉<sup>1</sup>, 永井 重徳<sup>1</sup>, 石原 和幸<sup>2</sup>, 池田 裕一<sup>3</sup>, 東 みゆき<sup>1</sup>

<sup>1</sup>医科歯科大 院医歯 分子免疫, <sup>2</sup>東歯大 微生物, <sup>3</sup>医科歯科大 院医歯 歯周病

---

**【背景と目的】**歯周病と全身疾患との関連が多く、疫学研究や動物研究から示唆されている。レッドコンプレックス細菌に代表される特定の歯周病原細菌による病原性によって引き起こされると考えられてきた歯周病は、歯周プラーク細菌叢の構成異常（ディスバイオーシス）による局所および全身の免疫攪乱疾患とも捉えることができる。本研究では、重度歯周炎患者の歯肉縁下プラーク細菌叢のディスバイオーシスを明らかにするとともに、ディスバイオーシス歯周細菌群が腸管免疫を攪乱し、腸炎発症に影響を与える可能性について検討した。**【方法および結果】**重度歯周炎(SP)患者と健常者(H)各10名の歯肉縁下プラーク細菌叢のメタ16S rRNA遺伝子解析を実施したところ、SP群とH群の細菌叢構成は大きく異なっており、ディスバイオーシスが確認できた。SP群での頻出菌種(Frequently detectable Severe Periodontitis Bacteria, FSPB)には、Porphyromonas gingivalisやTannerella forsythiaのみならず、歯周病との関連がほとんど認知されていない菌も含まれていた。FSPB 10種の嫌気性培養を試み成功した。ヒト潰瘍性大腸炎のマウスモデルとして利用されているデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)腸炎をBALB/c系統で誘導したところ、マウスブリーダー間で、腸炎の重篤度が異なることが明らかになった。発表では、培養FSPB混和液をゾンデで経口投与後の腸炎発症、腸内細菌叢、腸管免疫への影響を併せて報告する。

**【利益相反】**利益相反状態にはありません。

---

### Frequently detectable severe human periodontitis bacteria cause gut immunity in a mouse model

---

○Ikeda E<sup>1</sup>, Nagai S<sup>1</sup>, Ishihara K<sup>2</sup>, Ikeda Y<sup>3</sup>, Azuma M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci Dept Mol Immunol, <sup>2</sup>Tokyo Dent Coll Dept Microbiol, <sup>3</sup>Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci Dept Periodontol

---

Epidemiological studies revealed the association between periodontitis and systemic diseases. It is presently recognized that an imbalance of the normal microbiota, called dysbiosis, disrupts host immune system and causes periodontitis. The purpose of the study was to clarify the characteristics of subgingival microbiota in subjects exhibiting periodontitis and to investigate the influence of oral dysbiotic bacteria on the gut immunity. Our analysis of the 16S rRNA genes by pyrosequencing confirmed the difference in subgingival microbiota between periodontally healthy and periodontitis subjects. We chose frequently detectable severe periodontitis bacteria (FSPB) from the microbiota of periodontitis patients and cultivation was succeeded for these bacteria. Moreover, BALB/c mice were treated with dextran sodium sulfate (DSS) to induce experimental colitis. The severity of colitis was varied among mice vendors although mice treated with DSS. We will present the influence of FSPB on colitis onset, gut microbiota, and gut immunity as well.

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

---

---

**2-O4-E3 新規 B7 ファミリー免疫チェックポイントリガンド VSIG4 は、カウンターレセプターを介して早期の CD8 + T 細胞活性化を抑制する**

---

○Widyagarini Amrita, 張 晨陽, 東 みゆき

医科歯科大 院医歯 分子免疫

---

**VSIG4, a new B7 family immune checkpoint ligand, directly regulates early CD8 + T cell activation through its counter-receptor**

---

○Widyagarini A, Zhang C, Azuma M

Dept Mol Immunol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci

---

Purpose: T-cell responses are fine-tuned by positive and negative co-signal molecules expressed on immune cells and adjacent tissues. VSIG4 (also named as CR1g) is a newly identified B7-family immune checkpoint ligand and complement receptor that negatively regulates CD4<sup>+</sup> T-cell responses and innate immune responses. However, little is known about the direct effects of VSIG4, which are exerted through an unidentified counter-receptor on CD8<sup>+</sup> T cells. In this study, we investigated the binding of the VSIG4-Ig fusion protein during initial activation, and the functional involvement of VSIG4 pathway, using VSIG4-Ig and VSIG4-transfectants.

Materials and Methods: The extracellular domains of VSIG4 (aa1-187) and the constant region of mutant human IgG were inserted into the BCMGSNeo expression vector. VSIG4-Ig fusion protein was generated by transfection into Expi293F cells. The full-length mouse VSIG4 cDNA was inserted into expression vectors and VSIG4-transfected P815 (mastocytoma) and E.G7 (OVA-transfected EL-4 T lymphoma) cells were obtained.

Results: VSIG4-Ig binding to CD8<sup>+</sup> T cells was temporally observed in the CD44<sup>high</sup> phenotype during initial activation. VSIG4-Ig binding was observed earlier than the induction of PD-1, LAG3, and TIM-3, which are immune checkpoint receptors for exhausted CD8<sup>+</sup> T cells. Immobilized VSIG4-Ig inhibited anti-CD3/CD28 mAb-induced CD8<sup>+</sup> T cell activation, as indicated by proliferation and IFN- $\gamma$  production, similar to the downregulation of T-bet and Eomesodermin transcription factors. VSIG4 on Fc $\gamma$ R + P815 or specific antigen-presenting E.G7 cells inhibited the generation of effector CD8<sup>+</sup> T cells, as indicated by proliferation, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  expression, and granule degradation, compared to parental cells. However, the window for the regulatory function of VSIG4 was narrow and dependent on the strength of TCR (and CD28)-mediated signals.

Conclusions: Our results suggest that VSIG4 directly delivers co-inhibitory signals via an as-yet unidentified counter-receptor on activated CD8<sup>+</sup> T cells in a narrow window. VSIG4-mediated CD8 + T cell tolerance might contribute to the steady-state maintenance of homeostasis.

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

---



---

## 2-O4-E4 線維化を制御する PU.1 発現に対する核移行した CCN2 の作用

---

○西田 崇<sup>1,2</sup>, 滝川 正春<sup>2</sup>, 久保田 聡<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 口腔生化, <sup>2</sup>岡大 院医歯薬 歯先端研セ

---

Cellular communication network factor 2 (CCN2)はN末にシグナルペプチドを有し、C末付近に核移行様シグナルを持つユニークな分子である。CCN2は細胞外基質タンパク質の産生を促進するため、線維症に深く関与すると考えられているが、線維症のkey playerである筋線維芽細胞への分化にどのように関与するかは十分に明らかにされていない。そこで、本研究では、筋線維芽細胞分化を制御する転写因子PU.1(*Spi1*)の発現に対するCCN2の関与を明らかにすることを目的とした。マウス線維芽細胞株NIH3T3にC末にHA-tagを付加した*Ccn2*発現プラスミド(*Ccn2*-HA)を遺伝子導入し、細胞質画分と核画分に分けて、Western blot解析を行った結果、細胞質画分だけでなく、核画分にもCCN2が検出された。また、線維化マーカーである*Colla1*, *Acta2*及び*Spi1*の遺伝子発現レベルを定量PCR法で解析すると、*Colla1*の発現レベルは対照群と比べて変化しなかったが、*Acta2*と*Spi1*の遺伝子発現レベルは*Ccn2*-HAを遺伝子導入した群で有意に上昇した。次に、核移行したCCN2が*Spi1*遺伝子の発現上昇に関与するかを調べるために、*Ccn2*-HAを遺伝子導入したNIH3T3細胞からgenomic DNAを抽出し、抗CCN2抗体で免疫沈降後、*Spi1*プロモーター部分を定量PCR法で解析した。結果、*Ccn2*-HAを遺伝子導入した群では、対照と比較して、共沈降した目的DNA断片の増幅が見られた。以上の結果は、核内のCCN2が*Spi1*プロモーター上に結合し、筋線維芽細胞分化に重要なPU.1の発現上昇に関与することを示唆している。会員外共同研究者：辰川ひなた(岡大)

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Effect of nuclear-translocated CCN2 on the expression of PU.1 related to fibrosis

---

○Nishida T<sup>1,2</sup>, Takigawa M<sup>2</sup>, Kubota S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup>ARCOCS, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

---

Cellular communication network factor 2 (CCN2) is a unique molecule having signal peptide at N-terminus and nuclear localization signal around C-terminus. Although it has been considered that CCN2 plays an important role in fibrosis by enhancing extracellular matrix production, it is unclear how CCN2 is involved in the differentiation of myofibroblasts, which are key player of fibrosis. The aim of this study is to investigate the effect of CCN2 on expression of PU.1 (*Spi1*), which is a transcription factor regulating the differentiation of myofibroblasts. Firstly, we showed that CCN2 was detected in both the cytoplasmic and nuclear fractions of mouse fibroblastic NIH3T3 cells transfected with expression plasmid of full-length *Ccn2* (*Ccn2*-HA). The gene expressions of *Acta2*, a myofibroblastic marker, and *Spi1* were significantly up-regulated in the *Ccn2*-HA transfected-NIH3T3 cells, compared with the control, although *Colla1* expression, representing fibrosis had no effect. Furthermore, to examine the mechanism of up-regulation of *Spi1* by CCN2, we performed chromatin immunoprecipitation-qPCR and detected enhanced PCR signal from *Spi1* DNA fragments immunoprecipitated by anti-CCN2 antibody in the transfected cells. These findings suggest that the nuclear-translocated CCN2 regulates PU.1 expression, which is key factor of the differentiation to myofibroblasts. (Non-member co-authors; Ms. Tatsukawa, H.)

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

---

---

## 2-O5-F1 低分子量 G タンパク質 ARL4C の発現はエナメル上皮腫における腫瘍細胞増殖と破骨細胞形成を促進する

---

○藤井 慎介<sup>1,2</sup>, 自見英治郎<sup>3,4</sup>, 清島 保<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔病理, <sup>2</sup>九大 院歯 DDR 研究セ, <sup>3</sup>九大 院歯 OBT 研究セ,

<sup>4</sup>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。私共は、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。私共は、エナメル上皮腫症例において、免疫組織化学的に ARL4C が高頻度に腫瘍細胞特異的に発現することを見出した。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た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、マウス骨髓細胞および骨芽細胞と 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 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 pathway-dependent ARL4C expression promotes ameloblastoma cell proliferation and osteoclast formation

---

○Fujii S<sup>1,2</sup>, Jimi E<sup>3,4</sup>, Kiyoshima T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sect Oral Pathol, Grad Sch Dent, Sect Kyushu Univ, <sup>2</sup>DDR Cent, Grad Sch Dent, Sect Kyushu Univ, <sup>3</sup>OBT Cent, Grad Sch Dent, Sect Kyushu Univ, <sup>4</sup>Sect Mol Cell Biochem, Grad Sch Dent, Sect Kyushu Univ

---

Ameloblastoma is an odontogenic neoplasm characterized by intraosseous slow growth with progressive bone resorption of the jaw. Recent reports have demonstrated that ameloblastoma harbors an oncogenic BRAF V600E mutation with MAPK pathway activation. Recently, we have examined 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 showed a decrease of cellular growth and 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.

---

---

## 2-O5-F2 $\alpha$ TAT1によるチューブリンのアセチル化はエナメル上皮腫細胞の遊走浸潤に関与する

---

○吉本 尚平<sup>1</sup>, 岡村 和彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福歯大 病理, <sup>2</sup>福歯大 口腔医学研究セ

---

エナメル上皮腫は顎骨内で発生する良性歯源性腫瘍である。歯源性腫瘍の中でもっとも頻度の高い疾患であり、若年者での発生が多く、顎骨吸収を伴いながら増大していく。治療には周囲骨を含めた外科手術が選択される。そのため、顎骨切除後の患者でのQOLの低下は避けがたい。したがって、エナメル上皮腫の適切な治療のため、その進展機構を解明し、進展能を評価・予測可能なマーカーを開発することは有用であろう。今回我々はエナメル上皮腫が腫瘍微小環境からの刺激因子を利用し進展していく機序の一端を明らかにした。エナメル上皮腫細胞株(AM-1)を用いた実験で、細胞の移動において微小管を構成するタンパク質であるチューブリンのアセチル化の関与が示唆された。チューブリンのアセチル化には $\alpha$ TAT1 (alpha-tubulin N-acetyltransferase 1)が関わっている。エナメル上皮腫組織においてチューブリンのアセチル化と $\alpha$ TAT1との発現を免疫組織化学的に解析した結果、腫瘍の浸潤先端部分において両者の発現増加がみられた。また、AM-1において $\alpha$ TAT1によるチューブリンのアセチル化は、腫瘍周囲からのTGF- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ ), TNF- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ ), LPS (lipopolysaccharide)により促進された。それらの刺激によるチューブリンのアセチル化はTAK1 (TGF- $\beta$ -activated kinase1)を介していた。さらに、siRNAを用いた $\alpha$ TAT1の抑制により、AM-1の移動・浸潤が抑えられた。 $\alpha$ TAT1によるチューブリンのアセチル化を介したエナメル上皮腫の進展機構は、新たな治療標的や進展能を評価する指標となる可能性が考えられる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### alpha-TAT1-induced tubulin acetylation promotes ameloblastoma cell migration and invasion

---

○Yoshimoto S<sup>1</sup>, Okamura K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pathol, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll

---

Ameloblastoma (AB) is the most common benign epithelial odontogenic tumor occurring in the jawbone. AB is a slowly growing tumor but sometimes shows a locally invasive and an aggressive growth pattern with a marked bone resorption. In addition, the local recurrence and distant metastasis of AB also sometimes occurs, which resembles one of the typical malignant potentials. From these points of view, to understand better the mechanisms of AB cell migration or invasion is necessary. Microtubules play important roles in cell migration by undergoing assembly and disassembly with post-translational modifications. Stability of microtubules caused by their acetylation is involved in cell migration. In this study, we investigated the expression and distribution of acetylated alpha-tubulin and alpha-tubulin N-acetyltransferase 1 (alpha-TAT1), an enzyme which acetylates Lys-40 in alpha-tubulin, in AB specimens, and analyzed how tubulin was acetylated by alpha-TAT1 activation in a human AB cell line, AM-1. We clarified that TGF-beta-activated kinase1 (TAK1) was phosphorylated by TGF-beta stimulation, then, induced tubulin acetylation via alpha-TAT1 activation, which subsequently activated the migration and invasion of AB cells.

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

---

---

## 2-O5-F3 口腔扁平上皮癌において p63 シグナルは YAP シグナルと協調的に細胞内シグナルおよび DNA メチル化を制御する

---

○長谷川佳那<sup>1</sup>, 藤井 慎介<sup>1,2</sup>, 清島 保<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔病理, <sup>2</sup>九大 院歯 DDR 研究セ

---

口腔扁平上皮癌では治療標的となる遺伝子異常が少ないことが報告されている。そこで私共は、異常に活性化した細胞内シグナル伝達経路が口腔扁平上皮癌の腫瘍形成に関連すると仮定している。そして、これまでに口腔扁平上皮癌において、細胞外環境の変化により yes-associated protein (YAP) シグナルやカルシウムイオンチャネルの活性化が口腔扁平上皮癌の腫瘍形成を制御することを報告してきた。これらの細胞内シグナル伝達経路と、口腔扁平上皮癌において腫瘍形成に関与することが知られている p63 の腫瘍形成における相互作用については不明である。本研究では、p63 と私共が機能解析を行ってきた細胞内シグナル伝達経路が口腔扁平上皮癌腫瘍細胞の細胞形態や DNA メチル化へ与える影響について検討した。3 種類の口腔扁平上皮癌細胞株において、siRNA による機能抑制によって p63 の発現が、様々な癌に高発現し腫瘍形成に関与すると報告されている ADP-ribosylation factor (ARF)-like 4c (ARL4C) の発現に必要であり、核のサイズを調節することが示唆された。加えて、Dot blot 法にて p63 および YAP/transcriptional coactivator with PDZ-binding motif (TAZ) は協調的に 5-methylcytosine レベルおよび DNA メチル化酵素の一つである DNMT1 の発現を制御することを見出した。これらの結果から、p63 シグナルが YAP シグナルと協調的に細胞内シグナル伝達経路や DNA メチル化を制御することにより口腔扁平上皮癌の腫瘍形成に関与することが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## p63 signaling and YAP signaling cooperatively regulate intracellular signaling and DNA methylation in oral squamous cell carcinoma

---

○Hasegawa K<sup>1</sup>, Fujii S<sup>1,2</sup>, Kiyoshima T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sect Oral Patho, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Dento-craniofacial Development and Regeneration Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

---

There are few major driver events identified in oral squamous cell carcinoma (OSCC), resulting in lack of molecular targets of anti-tumor therapy for OSCC. Therefore, we hypothesize that abnormally activated intracellular signaling pathways may be involved in OSCC tumorigenesis. We recently reported that tumor extracellular environments promote OSCC tumorigenesis through the abnormal activation of intracellular signaling such as YAP signaling and Ca ion channel-mediated signaling. However, the relationship between these molecules and p63 in OSCC tumorigenesis remains unclear. Here we investigated the effect of p63 signaling and YAP signaling on OSCC tumorigenesis including cellular morphology and DNA methylation status. siRNA loss-of-function experiments revealed that p63 expression was required for ARL4C expression and p63 affected the size of nuclei in OSCC cell lines. ARL4C is reportedly highly expressed in the tumor lesion of various tumors and involved in the tumorigenesis. In addition, DNA methylation and the expression of DNA-methyltransferase 1 in OSCC cells were cooperatively regulated by p63 and YAP/transcriptional coactivator with PDZ-binding motif (TAZ) signaling. These results suggest that altered intracellular signaling and epigenetic regulation through the cooperation of p63 signaling and YAP signaling may be involved in OSCC tumorigenesis.

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

---



---

**2-O5-F4** (取り下げ)

---

---

**(withdrawn)**

---

---

## 2-O6-F1 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<sup>1</sup>, 坂詰 博仁<sup>2</sup>, 板垣 荘侑<sup>1</sup>, 森田 貴雄<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日歯大新潟 生化, <sup>2</sup>日歯大新潟 院生命歯 顎口腔全身管理

---

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 (NIR-PIT) が注目されている. NIR-PIT は, モノクローナル抗体と IR700Dye の複合体が細胞表面に到達した際に近赤外光を照射することで IR700Dye を活性化させ, 標的癌細胞のみを死滅させる治療法である. その際, 正常細胞には全く影響を与えない. 私達は, EGFR 過剰発現の唾液腺がんを対象に, モノクローナル抗体の代わりにタンパク小分子である Affibody を用いた NIR-PIT を行った. Affibody はサイズが小さいことから, Affibody-IR700Dye 複合体は, 迅速なクリアランスと良好な腫瘍透過性を有し, 従来の光免疫療法では対象とならない癌も治療できる可能性がある. In vitro では, EGFR Affibody-IR700Dye 複合体を用いた NIR-PIT は, EGFR 過剰発現唾液腺がん細胞 (A253, HSY) のネクローシスを誘発した. 一方, EGFR 発現が正常細胞と同レベルであるコントロール細胞 (MCF7) では, NIR-PIT を行っても細胞生存率に影響を与えなかった. さらに, 顎下腺癌細胞 (A253) をヌードマウス (BALB c-nu/nu) に移植し, 腫瘍体積の増加を継続的に計測した. その結果, 治療群の腫瘍体積は 20 日以上経過しても治療開始当初と変わらなかった. 一方, コントロール群の腫瘍体積は急激に増大した. 結論として, EGFR Affibody-IR700Dye 複合体を用いた NIR-PIT は, EGFR 過剰発現癌を抑制すると考えられた. Affibody と IR700Dye は現在臨床でも使用されていることから, Affibody を用いた新しい NIR-PIT は正常組織を損傷せずに唾液腺の機能を可及的に維持したまま, 効率的な治療を行える可能性がある.

**【利益相反】** 利益相反状態にあります.

---

## Near-infrared photoimmunotherapy using protein mimetic for EGFR over-expressing salivary gland cancer

---

○Yamaguchi H<sup>1</sup>, Sakadume H<sup>2</sup>, Itagaki T<sup>1</sup>, Morita T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem, Sch Life Dent at Niigata, Nippon Dent Univ, <sup>2</sup>Oral & Maxillofacial Surgery and Systemic Med, Nippon Dent Univ at Niigata

---

Near-infrared photoimmunotherapy (NIR-PIT) is a promising cancer therapy based on monoclonal antibody conjugated to a photosensitizer (IR700Dye). The conjugate can be activated by near-infrared light irradiation and causes necrotic cell death without effect of normal cells. We investigated NIR-PIT using a small protein mimetic (6-7 kDa), Affibody molecules, instead of a monoclonal antibody for EGFR-overexpressing cancer. To evaluate the efficacy of the NIR-PIT, we performed in vitro and in vivo experiments. In vitro, NIR-PIT using EGFR Affibody-IR700Dye conjugates induced the selective destruction of EGFR-overexpressing salivary gland cancer cells. 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 the cell viabilities. In vivo, the tumor volume in treatment group was not increased as compared with the control group. In conclusion, NIR-PIT using EGFR Affibody-IR700Dye conjugates restrict the EGFR over-expressing cancer progression. IR700Dye are currently used clinically and therefore, we expect that the new NIR-PIT using Affibody is able to treat salivary gland cancer includes the facial nerve inside and also keep the function of salivary glands to product saliva.

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest.

---

---

## 2-O6-F2 頭頸部扁平上皮がんの予後を予測する部分上皮間葉転換リスクモデルの構築

---

○毛利 安宏, 木曾田 暁, 工藤 保誠

徳大 口腔生命科学

頭頸部扁平上皮癌 (Head and neck squamous cell carcinoma: HNSCC) は世界的に発症率の高いがんであり, その罹患率は現在も増加傾向にある。化学放射線療法に加え, EGFR モノクローナル抗体セツキシマブや免疫チェックポイント阻害薬であるニボルマブが治療法として承認されているが, ヒトパピローマウイルス (HPV) 陰性 HNSCC の 5 年生存率は長い間改善されていない。そのため, HNSCC の生物学的理解に基づく, 最も効果的な治療法の提供を可能とするバイオマーカーの探索が求められている。我々は公共データベースから入手した HPV 陰性 HNSCC 症例のマイクロアレイデータ, および RNA-seq データを統合し, 760 症例の統合遺伝子発現プロファイルを作成した。作成した統合データを用い, HNSCC の悪性進展・リンパ節転移と強く関連することが報告されている部分上皮間葉転換 (partial-EMT) のスコアを症例ごとに算出し, partial-EMT 現象と関連する 368 遺伝子を同定した。さらに, 368 遺伝子の発現プロファイルから予後を予測する正規化線形回帰モデルを作成した。モデルから算出される各患者のリスクは, 患者予後を層別化した。また, 高リスク症例と低リスク症例における EGFR 関連分子発現, 免疫細胞浸潤度の比較から, 既存の分子標的治療が患者生存率の改善に対して有効ではない可能性が示唆された。我々が作成した partial-EMT に基づくモデルは, HNSCC の正確な予後予測を可能にすることに加え, HNSCC 生物学を理解する上でも有用であると考えられる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Construction of a partial epithelial-mesenchymal transition based prediction model for HNSCC prognosis

---

○Mouri Y, Kisoda S, Kudo Y

Dept Oral BioSci, Tokushima Univ

Head and Neck squamous cell carcinoma (HNSCC) is a cancer with the high incidence rate worldwide. In addition to chemoradiotherapy, the EGFR monoclonal antibody, cetuximab and the immune checkpoint inhibitor, nivolumab have been approved for the HNSCC treatment. However, the 5-year survival rate of human papillomavirus (HPV)-negative HNSCC has not improved over the years. Therefore, based on our understanding of HNSCC biology, the search for new biomarkers that will enable delivery of the most effective is needed. To understand HNSCC biology and identify new biomarkers, we integrated multiple microarray and RNA-seq datasets from 760 HPV-negative HNSCC cases obtained from public databases. We calculated partial epithelial-mesenchymal transition (partial-EMT) scores for each case in the integrated dataset, which have been reported to be correlated with malignant progression and lymph node metastasis of HNSCC. We identified 368 genes involved in the partial-EMT process. Regularized linear regression analysis was performed on the 368 genes and a prognostic model was constructed. The patient risk calculated from the model stratified the prognosis. Comparison between high- and low-risk cases suggested that existing targeted therapies may not be effective for patient survival. Our partial-EMT-based model is useful for the understanding HNSCC biology and accurate prognosis prediction of HNSCC.

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

---

---

## 2-O6-F3 CCN6 は Smad1/5/8 のリン酸化を阻害して BMP2 促進性の口腔がん細胞の上皮間葉転換を抑制する

---

○芳地 浩彰<sup>1</sup>, 西田 崇<sup>1,2</sup>, 滝川 正春<sup>2</sup>, 久保田 聡<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 口腔生化, <sup>2</sup>岡大 院医歯薬 歯先端研究セ

---

昨年の本学会において、我々は上皮系細胞の表現型を有するヒト口腔がん細胞株 HSC2 と上皮系と間葉系細胞の両方の表現型を有する HSC3 細胞との間で、cellular communication network factor (CCN)6 の産生量を比較し、CCN6 の産生が HSC3 細胞で減少していること、CCN6 と bone morphogenetic protein (BMP)2 が in vitro で結合すること、また、HSC3 細胞に CCN6 を添加すると、BMP2 で促進される上皮間葉転換 (EMT) が抑制されることを報告した。今回、BMP2 によって促進される EMT を CCN6 がどのように抑制するのかをより詳細に解析した。HSC3 細胞を低接着性プレートで培養すると、in vivo での構造に近い spheroids を形成することから、CCN6 と BMP2 の局在を蛍光免疫染色法で調べたところ、CCN6 と BMP2 は共局在を示した。この結果は、CCN6 と BMP2 が in vivo でも結合する可能性を示している。次に、ボイデンチャンバーの変法を用いて、BMP2 と CCN6 を添加した時の HSC3 細胞の遊走を解析すると、予想通りに、BMP2 によって HSC3 細胞の遊走は促進され、BMP2 と CCN6 を同時に添加すると、その作用は抑制された。この時、BMP2 によって亢進した Smad1/5/8 のリン酸化は CCN6 との同時添加によって減弱した。さらに、CCN6 を高産生する HSC2 細胞に CCN6 を標的とする siRNA を導入すると、scramble 配列の siRNA を導入した対照に比べて E-cadherin の遺伝子発現レベルは低下し、vimentin の遺伝子発現レベルは逆に上昇した。これらの結果は、CCN6 が BMP2 シグナルを減弱することによって、BMP2 による EMT 促進作用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 BMP2-induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) of human oral cancer cells via inhibition of Smad1/5/8 phosphorylation

---

○Hochi H<sup>1</sup>, Nishida T<sup>1,2</sup>, Takigawa M<sup>2</sup>, Kubota S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup>Adv Res Cent Oral Craniofacial Sci, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

---

In the last meeting, we reported that cellular communication network factor (CCN)6 was less produced in human oral cancer HSC3 cells with both epithelial and mesenchymal phenotypes than in HSC2 cells with epithelial phenotype. Additionally, we also showed that CCN6 interacted with bone morphogenetic protein (BMP)2 and that CCN6 suppressed epithelial-mesenchymal transition (EMT) induced by BMP2 in HSC3 cells. In this study, we investigated how CCN6 suppresses BMP2-induced EMT in more detail. As HSC3 cells cultured on non-coating plastic plate form spheroids that mimic in vivo structures, we performed indirect immunofluorescence analysis and found that CCN6 and BMP2 were co-localized. Next, we tested migration of HSC3 cells treated with CCN6, BMP2, or both using a modified Boyden chamber method. Expectantly, the cell migration was stimulated by BMP2, which was suppressed by the co-treatment with CCN6. Similarly, Smad1/5/8 phosphorylation was enhanced by BMP2, which was reduced by the co-treatment with CCN6. Furthermore, when HSC2 cells, which produce CCN6, were treated with siRNA against CCN6, E-cadherin and vimentin expressions were down- and up-regulated, respectively. These findings suggest that CCN6 suppresses BMP2-induced EMT via reduction of the BMP2 signaling.

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

---



---

### **3-O7-D1 Autoinducer Analog-1 (AIA-1) decreases antibiotic tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* through *pruR* and PA0066-65-64 expression**

---

○パレヴィ ムハンマドレザ<sup>1</sup>, 村上 圭史<sup>1,2</sup>, 村上 明一<sup>1</sup>, 藤猪 英樹<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>徳大 院医歯薬 口腔微生物, <sup>2</sup>川崎医療福祉大, <sup>3</sup>慶應大

---

### **Autoinducer Analog-1 (AIA-1) decreases antibiotic tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* through *pruR* and PA0066-65-64 expression**

---

○Pahlevi M<sup>1</sup>, Murakami K<sup>1,2</sup>, Murakami A<sup>1</sup>, Fujii H<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Microbiol Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, <sup>2</sup>Kawasaki Univ Med Welfare, <sup>3</sup>Keio Univ

---

**Purpose:** Antibacterial chemotherapy often fails to eradicate bacterial pathogens despite being sensitive to antibiotics. This phenomenon is caused by antibiotic tolerance. Antibiotic tolerance is the ability of bacteria to survive, but not grow in the transient dose of lethal antibiotic exposure. *Pseudomonas aeruginosa* infection is a high-risk nosocomial infection and is very difficult to eradicate due to its high antibiotic tolerance phenotype. Our group previously demonstrated a new compound, the Autoinducer Analog-1 (AIA-1), that reduce antibiotic tolerance without affecting antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*. However, the mechanisms of this compound remain to be elucidated. This study aimed to investigate the mechanisms of AIA-1 in antibiotic tolerance of *P. aeruginosa*. **Materials and Methods:** A transposon mutant library was constructed using miniTn5pro and screening was performed to isolate mutants with high antibiotic tolerance to biapenem and AIA-1. Transposon insertion site was detected with primers that anneal to the transposon and chromosome transposition junction. Deletion mutant and complemented strain was constructed based on genes that were detected and then killing assay with antibiotics and AIA-1 was performed. Gene expression upon exposure to biapenem and AIA-1 and their relationship to stress response genes were analyzed. **Results:** Two highly tolerant transposon mutants were isolated from the transposon mutant screening, Tn5-*pruR* and Tn5-PA0065. Deletion mutant of *pruR* and PA0066-65-64 displayed high antibiotic tolerance, which was 10 times higher survival rate than those in PAO1, after exposure to antibiotics and AIA-1. Complemented strains of *pruR* and PA0066-65-64 with their respective deletion mutants exhibited suppressed antibiotic tolerance. The expression of *pruR* and PA0066-65-64 were clearly inhibited by antibiotics and AIA-1. Additionally, the expression of *rpoS* were clearly upregulated by the deletion of PA0066-65-64. **Conclusion:** This study proposed that *pruR* and PA0066-65-64 are members of the antibiotic tolerance suppressors and AIA-1 may decrease antibiotic tolerance through these suppressors. It was determined that PA0066-65-64 had the function of partially inhibiting stress response genes, the *rpoS*. Further study should aim to investigate the effect of AIA-1 in protein production of *pruR* and PA0066-65-64.

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

---

---

### 3-07-D2 ビルベリー由来抗歯周病原細菌活性物質の精製と同定

---

○佐藤祐太郎<sup>1,2</sup>, 石原 和幸<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 天然医薬品開発, <sup>2</sup>東歯大 微生物

歯周炎は歯の喪失による咀嚼機能低下のみならず、糖尿病や動脈硬化といった口腔以外の疾患にもかかわることが示されている。歯周炎は歯肉縁下細菌叢の dysbiosis によって引き起こされると考えられ、*Porphyromonas gingivalis* は、それを誘導すると考えられている。歯周炎が感染症であるにも関わらず、歯周病原細菌に対する治療に用いられる薬物は限られている。我々の以前の研究で、ビルベリー果実には *Porphyromonas gingivalis* に対する増殖抑制活性を報告した。本件研究では本活性成分の精製と同定を試みた。ビルベリー果実アセトン抽出物に対して酢酸エチルと水による液液分配を行い酢酸エチル分画を回収した。さらに、得られた酢酸エチル分画に対してシリカゲルオープンカラムクロマトグラフィーを用いた精製を行った。抗菌活性は抽出後または精製後の分画に対して、それぞれの段階で測定された。最終精製後、活性のある分画に対してシリカゲル TLC 分析を行い単離を確認した。同活性分画の *Porphyromonas gingivalis* に対する最小発育阻止濃度 (MIC) は 6.25 µg/mL であった。これは、同条件下で測定したクロラムフェニコールの MIC が 12.5 µg/mL であったことと比較すると、同程度であるかそれより強い活性を持つと判断した。今後は、同活性分画に対して分子量測定と核磁気共鳴を用いて構造を決定する予定である。共同研究者：久保田高明 (岡大 医歯薬学総合研究科 天然医薬品開発学)

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Purification and identification of an anti-periodontal pathogenic-bacterial active substance derived from bilberry

---

○Satoh Y<sup>1,2</sup>, Ishihara K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Natural Products Chemistry, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup>Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll

Periodontitis not only affects masticatory function due to tooth loss, but also causes systemic diseases such as diabetes and arteriosclerosis. Subgingival dysbiotic flora is a major etiological agent of periodontitis. *Porphyromonas gingivalis* is known to induce dysbiosis. Although periodontitis is an infectious disease, drug-based therapeutic interventions are limited. We had previously reported about the inhibitory activity of bilberry fruit against *P. gingivalis*. In this study, we attempted to purify and identify the active ingredient in the fruit. Acetone extract of bilberry fruits was partitioned using ethyl acetate and water, and the ethyl acetate fraction was recovered. The recovered fraction was purified by open column chromatography using silica gel. Antibacterial activity of the post-extraction and post-purification fractions was measured at each step. After the final purification step, TLC analysis was performed using silica gel on the active fraction to confirm purification. The active fraction minimum inhibitory concentration (MIC) against *P. gingivalis* was 6.25 µg/mL, which indicated the same or greater inhibitory activity compared to 12.5 µg/mL of chloramphenicol under similar conditions. Furthermore, we plan to determine the compound structure of the active ingredient using mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. Collaborator: Kubota T. (Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)

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

---

---

### 3-07-D3 *Porphyromonas gingivalis* におけるタンパク質分泌機構の解析

---

○庄子 幹郎, 雪竹 英治, 内藤真理子

長大 院医歯薬 口腔病原微生物

【目的】 歯周病関連細菌である *Porphyromonas gingivalis* の病原因子として菌体表面の線毛やジンジパインが知られている。線毛関連タンパク質はリポタンパク質として、ジンジパインは9型分泌機構(T9SS)にて分泌される。タンパク質分泌機構の解析を行う目的で、我々は昨年の本学会でリポタンパク質分泌機構をモニターできる *fimA* シグナル配列-ルシフェラーゼ遺伝子 (*luc*)-His タグ (*fimAsigN-luc-His*) のコンディショナル発現系の構築を発表した。今回、本菌における *fimA*-*sigN-luc-His* を菌体外に分泌する機構の解明を試みた。また、9型分泌機構で分泌されるタンパク質である Hbp35 の一過的な遺伝子発現系を構築し、阻害剤の影響を調べた。【方法】 *fimAsigN* の20番目以降の極性アミノ酸をアラニンに置換して分泌に影響があるかを調べた。また、T9SS 分泌タンパク質の遺伝子として *hbp35* を用いて阻害剤の効果を調べた。【結果と考察】 *fimAsigN* の上記アラニン置換株が分泌に影響があるかを調べた結果、いくつかの極性アミノ酸を変異させると菌体外に分泌されないことがわかった。この結果は *Bacteroides* 属でも同様の結果が報告されていることから、本菌においても類似の分泌機構の存在が考えられる。一方、*hbp35* 遺伝子についても一過性の発現系を構築することができた。Hbp35 はイムノブロット解析を行うとスメアバンドを生じることで菌体表面に分泌したことを確認できる。これについて PMF 阻害剤などの影響を調べたところスメアバンドが減少していた。この結果は *Flavobacterium* 属の運動性が T9SS 依存性であり PMF 阻害で減少することから、本菌においても類似の分泌機構の存在が考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

### Protein secretion mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*

---

○Shoji M, Yukitake H, Naito M

Dept Micro Oral Infect, Nagasaki Univ, Grad Sch Biomed Sci

**Purpose:** *Porphyromonas gingivalis* has virulence factors such as fimbriae and gingipain proteases on the cell surface. In this study, we tried to construct conditional gene expression systems of the lipoprotein secretion system and the type IX secretion system (T9SS) in *P. gingivalis*. **Methods:** The anhydrotetracycline-inducible promoter with the *tetR* gene was inserted into an *mfa1mfa2::ermF* targeting plasmid. Gene of interest was placed after the inducible promoter. We used a luciferase gene with the *fimA* signal sequence in N-terminus and His-tag in C-terminus (*fimAsigN-luc-His*) and a *hbp35* gene to study the lipoprotein secretion system and the T9SS, respectively. **Results and Conclusion:** By using the conditional gene expression system of *fimAsigN-luc-His*, we found that some charged amino acids after the lipidation site of FimA are required for secretion. This finding is consistent with the findings of *Bacteroides* spp. So, it is possible that *P. gingivalis* utilize a similar lipoprotein secretion system. In addition, we succeeded a conditional expression system of the *hbp35* gene. A-LPS bound form of Hbp35 was reduced in the presence of a proton motive force (PMF) inhibitor. Thus, it is possible that the T9SS cargo proteins are secreted by PMF.

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

---

### 3-07-D4 マウスにおける *Porphyromonas gingivalis* 由来外膜小胞の血行動態について

○内山 大樹<sup>1,3</sup>, 宮崎 英隆<sup>2</sup>, 山口 雄大<sup>3</sup>, 中尾 龍馬<sup>3</sup>

<sup>1</sup>医科歯科大 院医歯 外科, <sup>2</sup>愛医大 眼形外, <sup>3</sup>国立感染症研 細菌第一部

【目的】 歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* (Pg) は、固有の病原因子を含んだ外膜小胞 (OMVs) を放出する。近年、Pg の OMVs が遠隔臓器における病態形成に関与する可能性が示唆されている。しかしながら生体内に侵入した OMVs がどのように分布、蓄積するのか、さらに全身疾患の発症や進展に関与するのか、明らかにされていない。本研究では、マウスに静脈投与した際の分布、および経時的变化について解析することを目的とした。【方法】 Pg の ATCC 33277 株の全菌体、および培養上清から OMVs を回収した。生後 6 週齢雌性 BALB/c マウスに対し、PBS を投与する群 (C 群)、Pg の全菌体を投与する群 (W 群)、OMVs を投与する群 (V 群) を作成し、C 群に 4 匹、W 群に 10 匹、V 群に 10 匹のマウスを供試した。それぞれ尾静脈内投与して 6、24、48 時間後にマウスを屠殺し、心臓、脾臓、腎臓、膀胱、下肢、肝臓、肺、血液、脳、胆嚢を摘出した。各臓器より DNA を抽出し、Pg 菌体または OMVs 由来 DNA を指標とした Real-time PCR により、Pg の菌体と OMVs の定量解析を行った。【結果】 W 群では、脾臓、腎臓、下肢、脳、肺、腎臓において 6 時間をピークに、その後検出量が減弱することが確認された。V 群では、脳を除く全ての臓器において、いずれの時間においても検出限界以下であった。一方で、脳においては OMVs 投与後 24 時間以降も検出量が減少することなく、48 時間後には全てのマウスに検出された。【考察】 多くの臓器において、Pg 菌体は接種後 6 時間から 24 時間という比較的早い段階で wash out、または臓器内での分解を受けていることが示唆された。一方で、Pg OMVs の一部は脳に蓄積することが明らかとなった。以上より、Pg の OMVs が血液脳関門を通過し、排除されることなく、髄膜あるいは脳実質や脊髄に到達し蓄積する可能性、ひいては神経変性疾患の病態形成において Pg OMVs 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。

### Fate of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles intravenously administered to mice

○Uchiyama H<sup>1,3</sup>, Miyazaki H<sup>2</sup>, Yamaguchi T<sup>3</sup>, Nakao R<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Surg, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup>Dept Oculoplastic and Orbital Surg, Aichi Med Univ, <sup>3</sup>Dept Bacteriol I, Natl Inst Infect Dis

**Objective:** *Porphyromonas gingivalis* (Pg) releases several virulence factors-laden outer membrane vesicles (OMVs) into the extracellular milieu. Recent studies have shown the epidemiological relationship between Pg infection and systemic disorders. Despite the possible long-distance delivery of Pg OMVs, little is known about the fate of Pg OMVs *in vivo*. In the present study, we investigated the spatiotemporal distribution of Pg OMVs in mice. **Materials and Methods:** BALB/c mice were injected via tail vein with PBS, Pg whole cells or OMVs, and euthanized at 6, 24, and 48 hours after injection. DNA was extracted from blood, liver, kidney, lung, brain, etc. The amount of the whole cells or OMVs in each organ was quantified by using a Pg-specific real-time PCR, which is based on high-sensitivity detection of the genomic DNA contained abundantly in whole cells and OMVs. **Results and Conclusion:** At 48 hours, Pg DNA was detected in brain of all mice injected with OMVs, but neither with the whole cells, nor in other organs. The findings suggest that brain is the only organ that accommodates Pg OMVs without being eliminated. We propose that Pg OMVs passed the blood-brain barrier may trigger chronic inflammation-driven neurodegenerative disorders in brain and spinal cord.

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



---

### 3-07-D5 菌体外で検出される *Streptococcus mutans* コラーゲン結合タンパク (Cnm) 複合体

---

○村田 貴俊

鶴大 歯 口腔衛生

【背景】菌体表面にコラーゲン結合タンパク (Cnm) を有する Cnm 陽性 *Streptococcus mutans* 感染と出血性脳卒中発症との統計学的有意な関連が複数の疫学研究で報告されている。しかしながら、Cnm が関与する脳卒中発症メカニズムは不明であり、Cnm 陽性 *S. mutans* 感染と脳卒中発症との因果関係は確定できていない。脳卒中病巣からの *S. mutans* 検出の報告がないことから、*S. mutans* 生菌だけでなく、菌体表層から分離した Cnm の病原性を考慮することが脳卒中発症メカニズム解明につながるかもしれない。【目的】本研究の目的は、菌体外で存在する Cnm の存在を明らかにすることである。【方法】Cnm 陽性の *S. mutans* OMZ 175 株 (WT 株) と WT 株の Cnm コード遺伝子 (*cnm*) 破壊株 (*dcnm* 株) の培養上清を回収、限外濾過膜で濃縮し、ウェスタンブロット法サンプルとした。一部の WT 株上清をリゾチウムと至適条件で反応させた。一次抗体として抗 Cnm ウサギ抗血清を使用した。【結果】WT 株培養上清中から Cnm 特異的抗血清に反応する分子量約 120kDa のバンドが検出された (菌体表層に存在する Cnm の分子量は約 80kDa)。リゾチウム反応後も検出されるバンドの分子量は約 120kDa であった。*dcnm* 株培養上清では、Cnm 特異的抗血清に反応するバンドは認められなかった。【結論】Cnm 陽性 *S. mutans* 培養上清には、構造不明だが Cnm 複合体が存在する。Cnm 複合体は、Cnm 陽性 *S. mutans* が関与する出血性脳卒中の発症機序解明のターゲットとなり得るかもしれない。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Detection of collagen-binding protein (Cnm) complex in *Streptococcus mutans* culture supernatant

---

○Murata T

Dept Oral Health, Tsurumi Univ Sch Dent Med

**Purpose:** The purpose of this study is to clarify the existence of collagen-binding protein (Cnm) in *Streptococcus mutans* culture supernatant. **Materials & Methods:** Culture supernatants of Cnm-positive *S. mutans* OMZ 175 strain (WT strain) and Cnm coding gene (*cnm*) disrupted strain (*dcnm* strain) were collected, respectively. The concentrated supernatants were supplied for Western blotting analysis. Anti-Cnm rabbit antiserum was used as the primary antibody. **Results:** A band with a molecular weight of about 120 kDa that reacts with Cnm-specific antiserum was detected in the culture supernatant of the WT strain (the molecular weight of Cnm present on the cell surface is about 80 kDa). The molecular weight of the band detected even after the lysozyme reaction was about 120 kDa. No band was observed in the *dcnm* strain. **Conclusion:** A Cnm complex is present in the Cnm-positive *S. mutans* culture supernatant, although the structure is unknown. The Cnm complex may be a target for elucidating the pathogenic mechanism of hemorrhagic stroke involving Cnm-positive *S. mutans*.

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

---

---

### 3-O8-D1 *Streptococcus pneumoniae* による肺炎において加齢が重症化に果たす機構の解明

---

○山口 雅也, 小林 桃子, 大野 誠之, 川端 重忠

阪大 院菌 口腔細菌

---

*Streptococcus pneumoniae* は mitis 群に分類されるレンサ球菌で、肺炎や敗血症、細菌性髄膜炎の主たる原因菌である。 *S. pneumoniae* による感染症は、高齢者で重篤化するリスクが高く、社会の高齢化に伴い医療リソースを圧迫する可能性が指摘されている。しかし、老化が *S. pneumoniae* 感染症の重症化におよぼす機序は十分に明らかとなっていない。そこで本研究では、動物感染モデルにて老化が感染病態におよぼす影響について解析した。

*S. pneumoniae* TIGR4 株を用いて、若齢群（約 2 ヶ月齢）、中年群（約 12 ヶ月齢）、高齢群（約 18 ヶ月齢）、後期高齢群（約 24 ヶ月齢）のマウスに対して経鼻感染を行った。中年群のマウスは若齢群と同等の生存率を示したが、高齢群と後期高齢群のマウスでは有意に生存率が低下した。次に若齢群と高齢群のマウスについて、感染 24 時間後の鼻腔洗浄液、肺胞洗浄液および血液中の菌数を測定した。その結果、高齢群のマウスでは、若齢群と比較して肺胞洗浄液において有意に高い菌数が検出された。経鼻感染後の肺胞洗浄液について細菌シングルセルゲノム解析を行ったところ、検出された菌体はすべて肺炎球菌であった一方で、菌体ごとに異なる変異が生じていることが示唆された。また、感染 24 時間後の肺組織について病理組織学的評価を行ったところ、高齢群のマウスで、若齢群と比較して好中球エラスターゼ陽性細胞の割合が有意に高いことが示された。さらに高齢群のマウスの肺胞洗浄液では、慢性的に IL-1 $\alpha$  や IL-22 などが高発現していることが示された。

これらの結果から、高週齢マウスの肺においては慢性的に好中球の活性化を促すサイトカインが高発現しているため、感染時に過度な好中球の活性化が引き起こされ、宿主の致死率を増加させる可能性が示された。

会員外共同研究者：川西邦夫（筑波大）、元岡大祐（阪大）、奥崎大介（阪大）

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Elucidation of the mechanism by which aging plays a role in the severity of pneumococcal pneumonia

---

○Yamaguchi M, Kobayashi M, Ono M, Kawabata S

Dept Oral & Mol Microbiol, Osaka Univ, Grad Sch Dent

---

*Streptococcus pneumoniae* is a major cause of pneumonia, sepsis, and meningitis. Pneumococcal infections are associated with a high risk of becoming more severe in the elderly. In this study, we analyzed the effects of aging on the pathogenesis of pneumococcal infection.

We performed intranasal infection with *S. pneumoniae* TIGR4 strain to young (~2 months old), middle-aged (~12 months old), elderly (~18 months old), and late-elderly (~24 months old) groups of mice. The middle-aged group showed similar survival rates to the young, whereas the elderly and late-elderly groups showed significantly lower survival rates. Next, we determined pneumococcal burden in the young and elderly mice. In the BALF from the elderly, significantly higher bacterial numbers were detected. Bacterial single-cell genomic analysis of BALF showed that while all detected bacteria were *S. pneumoniae*, different mutations occurred in each pneumococcal cell. Histopathological evaluation of infected lungs showed that a significantly higher rate of neutrophil elastase-positive cells was detected in the elderly group. Furthermore, BALF from the elderly group showed chronically high expression of IL-1 $\alpha$  and IL-22.

These results indicate that the chronic high expression of cytokines in the lungs of older mice may induce excessive neutrophil activation during infection and increase host lethality.

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

---

---

### 3-O8-D2 口腔 *Veillonella* における新栄養源-フルクトース代謝能の評価

---

○眞島いづみ<sup>1</sup>, 中澤 太<sup>2</sup>, 清浦 有祐<sup>1</sup>

<sup>1</sup>奥羽大 歯 口腔病態解析制御, <sup>2</sup>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。これまで、本属細菌は乳酸のみをエネルギー源とすると報告されていたが、フルクトースも利用できる代謝遺伝子群が保存されていることが、最近の我々の研究成果により明らかになった。そこで本研究では、口腔 *Veillonella* を用い、実際のフルクトース代謝能の評価を行った。

**【方法】** TYH 液体培地をコントロールとし、それぞれ乳酸添加 (TYHL)、フルクトース添加 (TYHF)、乳酸-フルクトースを添加 (TYHFL) した培地を用い、*V. atypica* 標準株を嫌気下、37°C で増殖曲線を詳細に検討した。更に、それぞれ最も良好な発育を示した TYHL (1%)、TYHF (0.25%) の対数増殖期、TYHFL においては対数増殖期及び定常期の菌体細胞を収集し、徐タンパク後、CE-TOFMS を用いてメタボローム解析を行った。

**【結果】** *V. atypica* は 1-2% 乳酸添加時が最も良い増殖を示したが、フルクトース単栄養下でも増殖し、0.25% 添加で最も良い増殖が確認された。また、乳酸-フルクトースの共栄養下では、0.25% 乳酸単栄養時よりもその増殖率及び速度が増加し、定常期の延長が明らかになった。また、メタボローム解析の結果、フルクトース代謝の各中間代謝産物が全て定量的に同定され、TYHFL 培養の定常期で最も高濃度を示した。

**【考察】** 本研究成果から、口腔 *Veillonella* がそのエネルギー源として乳酸以外にフルクトースを実際に利用できることが初めて明らかになった。また、乳酸-フルクトース共栄養下では、フルクトースが口腔 *Veillonella* の増殖率とライフスパンを延長させる作用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。

---

### Evaluation of the fructose metabolism in oral *Veillonella* as a novel nature

---

○Mashima I<sup>1</sup>, Nakazawa F<sup>2</sup>, Kiyoura Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Med Sci, Sch Dent, Ohu Univ, <sup>2</sup>Dept Oral Biol, Fac Dent, Univ Indonesia

---

The genus *Veillonella* is a common and predominant member of the oral microbiome. Previously, it has been reported that they consume the lactate only as an energy source. But recently, we clarified that oral *Veillonella* reserved genes related to fructose metabolism. Therefore, the purpose of this study was to evaluate the actual fructose metabolism in oral *Veillonella*.

In this study, the growth curve analysis, and metabolome analysis by CE-TOFMS were conducted using the type strain of *V. atypica* cultured in TYH medium with fructose or/and lactate substrates.

*V. atypica* most increased with 1-2% lactate. In case of a fructose substrate, they most increased at 0.25%. On the other hands, when the double substrates (0.25% both) were applied, the growth rate and speed were increased and the stationary phase was extended.

As the results of metabolome analysis, each intermediate metabolite related to fructose metabolic pathway were identified quantitatively. Furthermore, the highest concentration of all metabolites were detected at the stationary phase when they cultured with double substrates.

This study revealed for the first time that oral *Veillonella* have the actual fructose metabolism. Furthermore, it was suggested that fructose could increase their growth rate and extend the life-span.

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

---

### 3-O8-D3 口腔から分離されたセファロスポリン耐性グラム陰性菌に対する消毒剤感受性

○春田 梓<sup>1</sup>, 松尾 美樹<sup>2,3</sup>, 吉川 峰加<sup>1</sup>, 竹内 真帆<sup>1</sup>, Le Nguyen Tra Mi<sup>1</sup>, 津賀 一弘<sup>1</sup>, 小松澤 均<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>広大院医 補綴, <sup>2</sup>広大院医 細菌, <sup>3</sup>広大院 院内感染症プロジェクト研究セ

【目的】 グラム陰性薬剤耐性菌に対する消毒剤の効果を明らかにすること

【方法】 広島県内の介護施設における入居者の口腔および便から分離したセファロスポリン耐性グラム陰性菌である臨床分離株を用いて、口腔内に用いられる消毒剤であるポビドンヨード (PVPI), 塩化セチルピリジニウム (CPC), 塩化ベンザルコニウム (BZK) およびグルコン酸クロルヘキシジン (CHX) の最小発育阻止濃度 (MIC) を測定し、各菌株における感受性を検討した。ゲノムデータをもとに、消毒剤耐性の原因遺伝子の検出、Multilocus Sequence Typing (MLST) および系統樹解析を行った。また、対象者の臨床情報の収集および抗菌薬感受性試験を行った。

【結果と考察】 消毒剤感受性について、PVPI の MIC 値はすべての臨床分離株で洗口液の使用濃度以下を示したが、CPC, BZK および CHX の MIC 値は菌種・菌株によって幅広く異なることが明らかとなった。消毒剤耐性に関与する原因遺伝子の有無と感受性を確認したところ、消毒剤耐性遺伝子 *qacEΔ1* は *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *E. cloacae* に認められ、*P. aeruginosa* では遺伝子保有株の CPC および BZK に対する感受性が低く、統計学的有意差を認めた。口腔から耐性菌が検出された 38 名のうち 9 名から口腔と便で共通の菌種が認められ、解析できた 7 名のうち 5 名で ST タイプや耐性遺伝子、抗菌薬および消毒剤感受性が一致した。口腔の耐性菌保有者で、年齢と性別を含む多変量解析を行った結果、CPC 耐性と経管栄養の関連性が認められた。本研究の結果から、経管栄養を行う際には、皮膚やチューブに対して有効な消毒剤を用いる必要性が示された。さらに、口腔に存在するグラム陰性薬剤耐性菌の一部が消毒剤耐性も獲得していることが明らかになったことから、口腔ケア等の際には適切な消毒剤の選択と使用が重要であることが考えられる。(広島大学倫理委員会 E-1692-1 号, 国立感染症研究所倫理委員会 1017 号)

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

### Susceptibility of disinfectants against cephalosporin-resistant Gram-negative bacteria isolated from oral cavity

○Haruta A<sup>1</sup>, Matsuo M<sup>2,3</sup>, Yoshikawa M<sup>1</sup>, Takeuchi M<sup>1</sup>, Le MN<sup>1</sup>, Tsuga K<sup>1</sup>, Komatsuzawa H<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Dept Adv Prosthodont, Hiroshima Univ Grad Sch of Biomed Health Sci, <sup>2</sup>Dept Bacteriol, Hiroshima Univ Grad Sch of Biomed Health Sci, <sup>3</sup>Project Res Cent, Nosocomial Infect Dis, Hiroshima Univ

We evaluated the susceptibility of cephalosporin-resistant Gram-negative bacteria from oral and stool of residents in nursing homes of Hiroshima against 4 disinfectants (povidone-iodine (PVPI), cetylpyridinium chloride (CPC), benzalkonium chloride (BZK) and chlorhexidine chloride (CHX)) which are applied to oral cavity. MIC of PVPI showed below the concentration used for mouth wash, while MIC of CPC, BZK and CHX showed wide range. The susceptibility to disinfectants was quite different among species/strains. After investigated existence of disinfectant resistance genes, we found *qacEΔ1* gene in strains of some species, and the correlation of this gene with CPC/BZK resistance in only *P. aeruginosa*. By comparing the genome of the strains with same species isolated from oral and stool in one person, 5 of 7 subjects showed the same ST type, resistance genes and susceptibility to antibiotics and disinfectants. Multivariate analyses showed resistant to CPC was associated with tube feeding. Therefore, the study indicated the need to use effective disinfectants on the skin and tube when tube feeding is used. We found that some oral-derived GN-ARB strains showed a resistance not only antibiotics but also disinfectants, so these results suggest that the application of disinfectants during oral care should be used carefully.

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



### 3-O8-D4 ブラジル連邦共和国バイーア州産プロポリスの口腔細菌への影響

○瀧川 博樹, 真下 千穂, 南部 隆之, 円山 由郷, 沖永 敏則

大歯大 院菌 細菌

口腔細菌叢は、環境変化など様々な要因によって、細菌種や数の割合が多様性に変わることが分かってきている。天然の抗菌物質を含有するプロポリスは健康食品やう蝕・歯周病予防などに利用され、口腔内の環境改善に効果があることが報告されている。そこで本研究では、株式会社山田養蜂場本社より提供のブラジル連邦共和国バイーア州で採取されたエタノール抽出プロポリス (EEP) を用いて、EEP が口腔内に存在する細菌種にどのような影響を与えるかの検証を行った。試験菌として、*Actinomyces oris* (*A. oris*), *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) を用いた。*A. oris*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis* を前培養後、EEP (最終濃度: 0, 50, 100, 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を添加し、*A. oris* は好気条件下、*F. nucleatum* および *P. gingivalis* は嫌気条件下で、それぞれ 37°C で振盪培養を行い、3, 6, 12, 24 時間後の濁度の計測を行った。試験菌の中で *A. oris* および *P. gingivalis* に対して、増殖への影響がみられた。次に、*A. oris*, *P. gingivalis* に対する EEP の最小発育阻止濃度 (MIC) および最小殺菌濃度 (MBC) を求めた。24 時間培養後、マルチマイクロプレートリーダーを用いて濁度の計測した結果、MIC は *A. oris* は 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , *P. gingivalis* では 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。発育の見られなかった濁度の菌液を、固形培地上に滴下後 48 時間培養し、増殖の有無の確認を行い MBC を決定した結果、*A. oris* は 128  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上、*P. gingivalis* では 25.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。次に、*A. oris*, *P. gingivalis* に対する EEP の殺菌効果について検証した。*A. oris*, *P. gingivalis* を比較した際 *P. gingivalis* の方が低濃度での増殖抑制効果が高いことが分かった。以上の結果より、菌種によって EEP に対する感受性が異なることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

#### Effect of Brazilian propolis from the state of Bahia on oral bacteria

○Takigawa H, Mashimo C, Nambu T, Maruyama H, Okinaga T

Dept Bacteriol, Osaka Dent Univ Grad Sch Dent

Propolis has been reported to inhibit the dental plaque formation and improve oral health condition. In this study, ethanol-extracted propolis (EEP) from the state of Bahia, Brazilian was used to determine how EEP affects the growth of bacterial species in the oral cavity. *Actinomyces oris* (*A. oris*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) and *Fusobacterium nucleatum* were used as test bacteria. We measured the inhibitory effects of EEP on the growth of these bacteria at final concentration 50 and 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . The growth inhibitory effect was observed only in *A. oris* and *P. gingivalis*. Next, we determined the minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration of EEP against *A. oris* and *P. gingivalis*. We also examined, the bactericidal effect of EEP against these bacteria by using time-killing assay. Competing *A. oris* and *P. gingivalis*, *P. gingivalis* was found to be more susceptible at lower concentrations. These results indicated that the susceptibility to Brazilian EEP varies among the bacterial species.

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

### 3-O8-D5 歯周病菌の由来 LPS に起因する心疾患発症過程における心臓型アデニル酸シクラーゼの役割

○角田 通則<sup>1,2</sup>, 大貫 芳樹<sup>2</sup>, 吹田 憲治<sup>2</sup>, 松尾 一郎<sup>1,2</sup>, 早川 佳男<sup>2,3</sup>, 清本 賢一<sup>1,2</sup>, 森井 彰伸<sup>1,2</sup>, 成山明具美<sup>2,4</sup>, 五味 一博<sup>1</sup>, 奥村 敏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 歯周病, <sup>2</sup>鶴大 歯 生理, <sup>3</sup>鶴大 歯 麻酔, <sup>4</sup>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。慢性的な交感神経活性の亢進は心不全や不整脈などの心疾患を誘発する。我々は心臓特異的な発現を示す5型 AC 欠損マウスは慢性的な交感神経活性の増加に対して心臓保護効果があることを見出した。本研究では心臓型 AC の抑制効果を持つ抗ヘルペス薬ビダラビン (Vid) の PG-LPS による心機能障害に対する保護効果を検証する。【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 7 日後に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 染色で心臓線維化領域, TUNEL 染色でアポトーシス細胞数を評価した。【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。3) アポトーシス細胞数は LPS 群では有意に増加したが, LPS + Vid 群ではアポトーシス細胞数の増加は有意に抑制されていた。【結果】PG-LPS の投与による心機能障害はビダラビンの併用投与により抑制された。以上の実験結果は歯周病に起因する心疾患発症過程における心臓型アデニル酸シクラーゼの重要性を示唆している。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

### Role of cardiac adenylyl cyclase on cardiac dysfunction induced by *Porphyromonas gingivalis* LPS in mice

○Tsunoda M<sup>1,2</sup>, Ohnuki Y<sup>2</sup>, Suita K<sup>2</sup>, Matsuo I<sup>1,2</sup>, Hayakawa Y<sup>2,3</sup>, Kiyomoto K<sup>1,2</sup>, Morii A<sup>1,2</sup>, Nariyama M<sup>2,4</sup>, Gomi K<sup>1</sup>, Okumura S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Periodont, <sup>2</sup>Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Physiol, <sup>3</sup>Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Dent Anesthesiol, <sup>4</sup>Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Pediatr Dent

Patients with periodontal disease (PD) have 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 and apoptotic cells were significantly increased in PG-LPS group and co-treatment of Vid significantly attenuated myocardial fibrosis and apoptotic cells. 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-O9-E1 唾液腺および口腔粘膜上皮細胞における ACE2 発現：AMPK の役割

---

○四釜 洋介, 古川 匡恵, 松下 健二

長寿セ 口腔疾患研究

【背景・目的】 Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)は、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) が宿主細胞へ感染する際に受容体として機能する事が知られている。これまで顎顔面領域組織における ACE2 発現は、主に網羅的遺伝子発現解析や免疫組織化学染色法により検討されてきたが、近年の研究結果から、ACE2 の分子量がその機能を左右する事が明らかになってきた。また、加齢や糖尿病などの代謝性疾患は SARS-CoV-2 感染・重症化リスク因子としても知られているため、本研究では唾液腺・口腔由来上皮細胞に発現する ACE2 の分子量、およびその ACE2 発現に対する AMP-activated protein kinase (AMPK) の役割について解析する事を目的とした。【材料と方法】 ヒト由来の唾液腺上皮細胞株 (A253)、口腔扁平上皮細胞株 (HSC-2)、不死化歯肉上皮細胞 (OBA-9)、歯肉上皮細胞 (HGK)、口腔粘膜上皮細胞 (HOK) を用いて、遺伝子発現を real-time PCR 法、タンパク発現を western blot 法により解析した。AMPK activator として、AICAR およびメトホルミンを使用した。【結果】 約 120kDa の ACE2 発現は A253 でのみ確認され、その他供試した細胞ではほぼ検出されなかった。ACE2 遺伝子発現レベルとタンパク発現レベルは必ずしも一致しない傾向であった。A253 において、AICAR およびメトホルミンの濃度依存的に 120kDa ACE2 発現が抑制された。【考察】 ACE2 発現を解析する際にはその分子量に着目する事が重要であり、唾液腺上皮細胞における ACE2 発現は、AMPK シグナルにより調節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。

---

### Different expression patterns of ACE2 in epithelial cells of the salivary gland and oral mucosa: Involvement of AMPK signaling

---

○Shikama Y, Furukawa M, Matsushita K

Dept Oral Dis Res, Natl Cent for Geriatr Gerontol

SARS-CoV-2 invades host cells using spike proteins that bind to angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2). Although the expression of ACE2 has been detected in oral-related tissues, such as the salivary gland and oral epithelium, mainly by a comprehensive gene expression analysis and immunohistochemical analysis, ACE2 was recently shown to function as a receptor for SARS-CoV-2 in a manner that depends on its molecular weight. Old age and diabetes have been identified as risk factors for severe COVID-19. Therefore, the present study examined the molecular weight of ACE2 expressed in salivary and oral epithelial cells and investigated the involvement of AMP-activated protein kinase (AMPK) signaling, which regulates metabolic homeostasis from the cellular to whole body level, in the expression of ACE2 in these oral-related cells. A Western blot analysis revealed 120-kDa ACE2 in salivary gland epithelial cells (A253), but not in other oral-related epithelial cells (derived from the gingiva and oral mucosa). The AMPK activators, AICAR and metformin, dose-dependently inhibited the expression of 120-kDa ACE2 in A253 cells. Collectively, these results suggest that functional ACE2 is expressed in salivary gland epithelial cells, and its expression levels are regulated by AMPK signaling.

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

---

### 3-O9-E2 ハムスターモデルにおける口腔あるいは鼻腔を介した SARS-CoV-2 感染波及の比較

○五條 菜央<sup>1</sup>, 宇佐美 悠<sup>2</sup>, 木村 友昌<sup>1,3</sup>, 酒井 学<sup>4</sup>, 阪井 丘芳<sup>1</sup>

<sup>1</sup>阪大院歯 顎治, <sup>2</sup>阪大院歯 口腔病理, <sup>3</sup>阪大院歯 口外2, <sup>4</sup>阪大 歯病 検査部

【背景】SARS-CoV-2 が体内へ侵入する入口として主に鼻と口が考えられるが、侵入経路の違いが肺にどのような影響を与えるかは不明である。また、過去の研究ではウイルスが唾液腺で複製され、唾液中に排出されることが明らかとなっているが、どのような経路で唾液腺に感染するかは明らかとなっていない。唾液腺感染の侵入経路が分かれば、他者への飛沫感染や唾液の誤嚥による重症化を予防できる可能性がある。これまでの動物実験では、鼻からウイルスを投与することで感染が確認されているが、本研究ではそれに加えて口腔からウイルスを投与し、ウイルス侵入経路による感染波及の比較を行った。【方法】7週齢のSyrianハムスターにSARS-CoV-2ウイルス培養上清液を鼻腔投与、舌上投与、舌下投与の3種類の 방법으로投与し感染させた。投与3日後に解剖し、肺、顎下腺、鼻甲介を剖出した。抗SARS-CoV-2抗体で免疫染色を行い、細気管支上皮、唾液腺導管上皮、鼻粘膜上皮面積あたりのSARS-CoV-2タンパク発現量の比較と病理組織学的検討を行った。【結果】SARS-CoV-2タンパクは全ての投与方法で細気管支上皮と唾液腺導管上皮に発現していた。その発現量は肺では特に鼻腔投与で多く、唾液腺では舌下投与で多かった。鼻腔粘膜は、鼻腔投与でのみSARS-CoV-2タンパクが発現しており、嗅神経に特異的なタンパク上にも発現が確認された。炎症とアポトーシスが感染した肺と鼻粘膜で認められたが、唾液腺では認められなかった。【結論】SARS-CoV-2タンパクの発現量に差はあるものの、肺と唾液腺においては鼻と口、どちらからウイルスが侵入しても感染し、鼻腔粘膜は鼻からのみ感染するが明らかとなった。個々の症状の違いや重症度の差には、ウイルス侵入経路が関わっている可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

#### The Syrian hamster as a model for SARS-CoV-2 infection from oral cavity

○Gojo N<sup>1</sup>, Usami Y<sup>2</sup>, Kimura T<sup>1,3</sup>, Sakai M<sup>4</sup>, Sakai T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral-Facial Disorders, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Oral pathol, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Oral Surg 2, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>4</sup>Dept Clin Lab, Osaka Univ Dent Hosp

[Background] The nose and mouth are thought to be the main entry points for the SARS-CoV-2, but it is unclear how the different routes of entry affect the spread of infection. In this study, we analyzed the spread of infection in the body, depending on the route of entry. [Methods] Seven-week-old hamsters were infected with SARS-CoV-2 either from nasal, sublingual, or lingual cavity. After three days, the lungs, submandibular glands (SMG) and nose turbinates were dissected. SARS-CoV-2 protein expression per area was compared, using Immunostaining. [Results] SARS-CoV-2 protein expression was found in bronchial epithelium of the lung and duct epithelium of the SMG in all administration methods. It was particularly prominent by nasal infection in the lungs and by sublingual infection in the SMG. The protein expression in nasal mucosa was observed only by the nasal administration. Inflammation and apoptosis were observed in the lungs and nasal mucosa, but neither was observed in SMG. [Conclusion] Despite differences in the SARS-CoV-2 protein expression, we revealed that while the lungs and SMG were infected from the nose and mouth, the nasal mucosa was infected only from nose. The route of virus-entry may be responsible for the differences in symptoms and severity.

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



### 3-O9-E3 ピロカルピンとベタネコール刺激による唾液分泌変化の違い

○坂詰 博仁<sup>1,2</sup>, 山口 晴香<sup>2</sup>, 佐藤 律子<sup>3</sup>, 板垣 壮侑<sup>2</sup>, 吉田 織恵<sup>4</sup>, 根津 顕弘<sup>5</sup>, 谷村 明彦<sup>5</sup>, 田中 彰<sup>1</sup>, 森田 貴雄<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日歯大新潟 口外, <sup>2</sup>日歯大新潟 生化, <sup>3</sup>日歯大新潟短大 歯科衛生, <sup>4</sup>日歯大新潟 小児, <sup>5</sup>北医療大 歯 薬理

**【目的】** ムスカリン受容体アゴニストのピロカルピン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, 継続的投与による唾液分泌の漸次的亢進を認めるが, その分子メカニズムは明らかになっていない. 本研究では, 同じムスカリン受容体アゴニストのベタネコールをラットに投与したところ, 唾液分泌量の変化においてピロカルピンとは異なる結果が得られたので報告する. **【方法】** ラット (9 週齢) に対しピロカルピン (Pilo) 1 mg/kg を腹腔内投与し, 全唾液分泌量を測定した. さらにその 1 週間後に同ラット (10 週齢) に同濃度の Pilo を腹腔内投与し, 唾液分泌量を測定し 1 週間前と比較した. さらにベタネコール (Beth) を用いて同様にラットの全唾液分泌量の変化を比較した. また, ヒト唾液腺由来細胞 (HSY) を無血清培地で Pilo または Beth で刺激し, タンパク質を採取しウェスタンブロットを行った. 1 次抗体には Cell Signaling TECHNOLOGY の ERK1/2 Rabbit mAb, Phospho-ERK1/2 Rabbit mAb を用いてアゴニスト刺激によるリン酸化の亢進の有無を確認した. **【結果と考察】** ラットへ Pilo, Beth (1 mg/kg) を 2 回投与し, 分泌量の変化を比較した結果, Pilo 刺激で唾液分泌量の増加を認めたのに対し, Beth 刺激の場合は唾液分泌量の減少を認めた. また, HSY において Pilo または Beth 刺激 15 分後で, 共に ERK1/2 のリン酸化の亢進がみられた. これらのことから, Pilo と Beth 刺激による唾液分泌変化の違いは, MAPK 系とは異なるシグナル経路を介する可能性が考えられる. また, ラットへの Pilo 投与により, いくつかの遺伝子の発現変化が認められ, HSY においてもこれらの遺伝子が発現していた. 今後はこれらの遺伝子発現とアゴニスト刺激を介した細胞内シグナル経路の関係を明らかにし, ピロカルピンの分泌増強作用の分子メカニズムを解明する.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

### The difference of changes of salivary secretion induced by stimulation with pilocarpine and bethanechol

○Sakazume H<sup>1,2</sup>, Yamaguchi H<sup>2</sup>, Sato R<sup>3</sup>, Itagaki T<sup>2</sup>, Yoshida O<sup>4</sup>, Nezu A<sup>5</sup>, Tanimura A<sup>5</sup>, Tanaka A<sup>1</sup>, Morita T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>2</sup>Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>3</sup>Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ Col at Niigata, <sup>4</sup>Dept Pediatr Dent, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>5</sup>Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent

The muscarinic receptor agonist pilocarpine (Pilo) is used as a salivary stimulant for xerostomia such as Sjögren's syndrome, and its continuous administration has been shown to progressively increase salivary secretion, but the molecular mechanism is still unclear. In the present study, we report on the administration of bethanechol (Beth), also a muscarinic receptor agonist, to rats, which showed different results from those of Pilo in terms of changes in salivary secretion. As the results of twice intraperitoneal administration of Pilo and Beth (1 mg/kg) to rats, Pilo stimulation caused an increase in salivary secretion at 2nd administration, whereas Beth caused a decrease in salivary secretion. In addition, as the results of Western blot analysis, both Pilo and Beth stimulation in HSY cells resulted in an increase in MAPK phosphorylation. These findings suggest that the enhanced effect of Pilo on salivary secretion are due to different signal mechanism from MAPK pathway. We found Pilo-induced changes of the expression of several genes in rats, which were also expressed in HSY cells. We are trying to elucidate the relation of the expression of these genes and intracellular signal mechanisms by agonist stimulations, and the molecular mechanisms underlying the enhancement of Pilo-induced salivary secretion.

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

### 3-O9-E4 唾液腺の発育において HIF-1 $\alpha$ が mTOR シグナル経路に与える影響

○木村 友昌<sup>1,2</sup>, 酒井 学<sup>3</sup>, 五條 菜央<sup>2</sup>, 阪井 丘芳<sup>2</sup>

<sup>1</sup>阪大 院歯 口外 2, <sup>2</sup>阪大 院歯 顎治, <sup>3</sup>阪大 歯病 検査

【背景】 Mammalian target of rapamycin (mTOR) は、組織の発生、発育などを制御するセリン・スレオニンキナーゼであり、通常 mTOR complex 1/2 など複数の複合体から構成されている。また、Hypoxia inducible factor 1 (HIF-1 $\alpha$ ) は組織が低酸素状態に陥った際に誘導される転写因子である。mTOR と HIF-1 $\alpha$  は共に唾液腺の発育に関与していることが示されているが、mTOR シグナル経路と HIF-1 $\alpha$  の関わりについては明らかではない。そこで本研究では胎仔唾液腺の器官培養を用いて mTOR シグナル経路と HIF-1 $\alpha$  の関係について検討した。【材料および方法】 妊娠 13.5 日目の ICR マウスから胎仔唾液腺を単離し、酸素条件を 20% と 1% に調整して DMEM/F12 培地で器官培養した。また、HIF-1 $\alpha$  活性化剤である DMOG と HIF-1 $\alpha$  阻害剤である BAY87-2243 を培地に添加した。培養後の唾液腺を用いて形態の観察と腺房数の計測、mTOR 関連タンパク質および発育関連タンパク質の発現レベルを Western Blot 法により解析した。【結果】 1, HIF-1 $\alpha$  の発現は 20% では認めず、1% では培養を開始した 4 時間後に強く認めた。1% で培養した唾液腺は 20% と比較して腺房数、大きさともに減少していた。2, 1% では HIF-1 $\alpha$  の発現が増加したが、P-AKT, P-mTOR, P-4eBP1, P-S6K, CyclinD1, PCNA の発現は全て減少した。3, 20% では DMOG を用いると HIF-1 $\alpha$  の発現は非添加群と比べて強く増加したが、P-AKT, P-mTOR の発現は減少した。1% では BAY87-2243 を用いると HIF-1 $\alpha$  の発現は非添加群と比べて減少した。一方で P-AKT (308, 473), P-mTOR の発現は増加した。【結論】 本研究により低酸素状態では唾液腺の発育は抑制されることが明らかとなった。mTOR と HIF-1 $\alpha$  はともに唾液腺の発育に関与するが、低酸素状態においては HIF-1 $\alpha$  の発現の強い増加による mTOR シグナル経路の抑制、また細胞周期と細胞増殖能の抑制により、唾液腺の発育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。

### The HIF-1 $\alpha$ regulates the mTOR signaling pathway in salivary gland development

○Kimura T<sup>1,2</sup>, Sakai M<sup>3</sup>, Gojo N<sup>2</sup>, Sakai T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Surg 2, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Oral-Facial Disorders, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Clinical Lab, Osaka Univ Dent Hosp

[Background] Mammalian target of rapamycin (mTOR) is a serine-threonine kinase that regulates tissue development, growth. Hypoxia inducible factor 1 (HIF-1 $\alpha$ ) is a transcription factor that is induced when tissues are exposed to hypoxia. Both mTOR and HIF-1 $\alpha$  involved in submandibular gland (SMG) development, but the relationship between the mTOR signaling pathway and HIF-1 $\alpha$  is unclear. In this study, we investigated the relationship using organ cultures of SMGs. [Methods] E13.5 SMGs were isolated from ICR mice cultured under 20% and 1% O<sub>2</sub>. DMOG, a HIF-1 $\alpha$  activator, and BAY87-2243, an inhibitor was added to the culture. After culture, we observed morphology and performed western blot analysis to analyze the expression of mTOR-related proteins. [Results] SMGs cultured under 1% showed reduced number and size of buds. The expression of HIF-1 $\alpha$  was upregulated from SMG cultured under 1% and cultured with DMOG, while P-AKT, P-mTOR, P-4eBP1, P-S6K, CyclinD1, and PCNA were downregulated. The expression of P-AKT and P-mTOR in SMGs cultured with BAY87-2243 was increased. [Conclusions] We found that SMG development suppressed under severe hypoxia. mTOR and HIF-1 $\alpha$  are both involved in SMG development, but strong expression of HIF-1 $\alpha$  under hypoxia suppressed mTOR signaling pathway, cell cycle, and proliferation resulting in reduced SMG development. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

---

### 3-O9-E5 歯髄幹細胞培養上清の抗酸化効果による放射線性口腔乾燥症の治療メカニズム

---

○沖 若奈, 加納 史也, 西原 嵩晃, 橋本 登, 山本 朗仁  
徳大 院医歯薬 組織再生制御

---

【緒言】頭頸部の悪性腫瘍に対して外科手術以外に放射線治療が選択される。しかし照射範囲に唾液腺を含む場合、放射線性口腔乾燥症 (Radiation-induced xerostomia: RIX) が発現する。現在 RIX の有効な治療法はない。過去の研究で幹細胞の培養上清 (CM) が RIX モデルを改善させることが示されているが、メカニズムは不明である。本研究では歯髄幹細胞の CM (SHED-CM) を用いて RIX マウスモデルへの治療効果を検討した。【材料・方法】マウス頸部に X 線 5Gy 局所照射、および SHED-CM あるいは線維芽細胞培養上清 (Fibro-CM) の尾静脈投与を 7 日間継続した。マウス顎下腺を摘出し、唾液腺重量、組織学的評価、遺伝子学的評価、活性酸素 (ROS) の発現を評価した。不死化ヒト唾液腺腺房細胞 (AC) に X 線 5Gy 照射し、SHED-CM あるいは Fibro-CM で培養後、細胞増殖活性、遺伝子学的評価、ROS の発現を評価した。また各 CM の LC-MS/MS 解析によりプロテインプロファイルを明らかにした。【結果】X 線の連日照射後に顎下腺腺房は萎縮し細胞間隙が形成されたが、SHED-CM 投与群では間隙の形成の抑制、線維化の抑制を認め、唾液腺の機能を維持した。SHED-CM は放射線性由来の ROS を抑制し、複数の抗酸化遺伝子の発現を亢進させた。AC に放射線を照射し SHED-CM で培養すると ROS の発現が抑制された。LC-MS/MS 解析では、内因性抗酸化系を活性化する 8 つのタンパク質が特定され、SHED-CM で有意に多く発現していた。また SHED-CM 内の抗酸化酵素は Fibro-CM と同程度か有意に低かった。【結論】SHED-CM は腺房細胞の抗酸化活性を亢進し、放射線性由来の ROS の発現を抑制した。SHED-CM は RIX の新たな治療法となる可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Therapeutic benefits of factors derived from stem cells from human exfoliated deciduous teeth for radiation-induced mouse xerostomia

---

○Oki W, Kano F, Nishihara T, Hashimoto N, Yamamoto A  
Dept Anat Histol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

---

Radiation therapy for head and neck cancers is frequently associated with adverse effects on the surrounding normal tissue. Irreversible damage to radiation-sensitive acinar cells in the salivary gland (SG) causes severe radiation-induced xerostomia (RIX). Currently, there are no effective drugs for the treatment of RIX. In this study, we investigated the efficacy of conditioned medium derived from stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED-CM) for treatment of consecutive local irradiation of the SGs in a mouse RIX model. Intravenous administration of SHED-CM, but not fibroblast-CM (Fibro-CM), after each irradiation prevented radiation-induced cutaneous ulcer formation and maintained function of SGs. Notably, SHED-CM treatment strongly suppressed radiation-induced oxidative stress and enhanced the expression of multiple antioxidant genes in mouse RIX and human acinar cell. The therapeutic effects of SHED-CM were abolished by the superoxide dismutase inhibitor, sodium diethyldithiocarbamate trihydrate, suggesting that SHED-CM prevented RIX primarily through the activation of multiple antioxidant enzyme genes in the target tissue. Importantly, quantitative LC-MS/MS shotgun proteomics of SHED-CM and Fibro-CM identified eight proteins that activate the endogenous antioxidant system, which were significantly more abundant in SHED-CM. Taken together, our study suggest that the strong antioxidant activity of SHED-CM may provide substantial therapeutic benefits for RIX.

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

---

---

### 3-O9-E6 脱細胞化唾液腺組織を応用した人工唾液腺の作出

---

○大沼慎太郎, 美島 健二, 安原 理佳, 田中 準一, 行森 茜

昭大 院歯 口腔病理

---

[背景]

これまでに, *in vitro* において3次元的な唾液腺細胞の培養法として, スフェロイド培養法やオルガノイド培養法が用いられてきた. しかしながら, 実際の生体内に存在する細胞の足場となるべき間質組織を持たないことなどの理由から, その大きさは1 mmに満たないもので極めて小さなものであった. 一方近年, 脱細胞化技術を応用した scaffold の開発が進められ, 細胞ソースと組み合わせることにより, より大きな臓器の形成が報告されている.

[目的]

脱細胞化技術を用いて, ラット顎下腺の脱細胞化を図り, *in vitro* において人工唾液腺の scaffold として応用することを目的とした.

[結果]

摘出したラット顎下腺を経導管的に1% SDSを1時間灌流させることにより顎下腺が脱細胞化され, 色調の変化が認められた. HE染色およびAZAN染色では細胞成分は確認されず, 線維性結合組織のみであった. 免疫組織化学により, 間質線維性結合組織の性状を確認したところ, Collagen I, Collagen IVなどの細胞外マトリックスより構成されていた.

[結論]

今回ラットの顎下腺組織を脱細胞化することに成功した. この脱細胞化唾液腺組織は極めて正常な唾液腺の間質に類似した構造を保持していることが明らかとなった. 今後我々が開発したiPS細胞由来唾液腺細胞の scaffold として応用することにより, より大きな唾液腺組織が構築できるものと期待される.

[共同研究者]

生体材料工学研究所 生体機能修復研究部門 物質工学分野

岸田晶夫 木村剛

[利益相反] 利益相反状態にはありません.

---

### Generation of artificial salivary glands using decellularization method

---

○Ohnuma S, Mishima K, Yasuhara R, Tanaka J, Yukimori A

Dept Oral Pathol, Showa Univ Grad Sch Dent

---

[Background]

Spheroid and organoid culture methods have been used to generate three-dimensional salivary glands *in vitro*. However, due to the lack of interstitial connective tissue that should serve as a scaffold for cells *in vivo*, their size is not more than 1 mm. However, recently, scaffolds based on decellularization technology have been developed, and when combined with cell sources, the formation of larger organs has been reported.

[Objective]

The objective of this study was to decellularize rat submandibular glands using decellularization technology and apply it as a scaffold for artificial salivary glands *in vitro*.

[Result]

Histologically, only fibrous connective tissue without cell components was found. Immunofluorescent analysis showed that the fibrous connective was composed of the extracellular matrix such as collagen I and IV.

[Conclusion]

In this study, we succeeded in decellularizing rat submandibular glands. The decellularized salivary glands retained stromal structures similar to normal salivary glands. The decellularized salivary glands are expected to be a promising scaffold for the iPS cell-derived salivary gland cells.

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

---



---

### 3-O10-F1 骨芽細胞分化における細胞内および分泌型オステオポンチンアイソフォームの異なる役割

---

○マルディヤントロ フレディ<sup>1,2</sup>, 成 昌煥<sup>1,2</sup>, 千葉 紀香<sup>2</sup>, 大西 智和<sup>2</sup>, 松口 徹也<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>鹿大 院医歯 顎顔面外科, <sup>2</sup>鹿大 院医歯 口腔生化

---

#### Different roles of intracellular and secreted osteopontin isoforms in osteoblast differentiation

---

○Mardiyantoro F<sup>1,2</sup>, Seong C<sup>1,2</sup>, Chiba N<sup>2</sup>, Ohnishi T<sup>2</sup>, Matsuguchi T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent, <sup>2</sup>Dept Oral Biochem Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent

---

**Introduction:** Osteopontin (OPN) is expressed in various cell types including osteoblasts and is important for bone regeneration. We and others have found that OPN expression increases during osteoblast differentiation, whereas its physiological roles have not been fully elucidated. Although OPN was found as a secreted protein (sOPN), recent reports identified the intracellular isotype of OPN (iOPN). This study aimed to investigate the roles of OPN isoforms in osteoblast differentiation using in vitro inducible expression system. **Methods:** Using site-directed mutagenesis, we constructed two cDNA isoforms of OPN: iOPN which lacks the signal peptide and OPN-wt that has full length sequence with normal signal peptide. Each of these two cDNAs was cloned into pTre2-Hyg, an inducible expression vector, and transfected into MC3T3-E1 Tet-On, an osteoblast cell line with Tet-On plasmid. After drug selection, inducible OPN protein expression was confirmed in the isolated cell clones by western blot. MC3T3-E1 inducible cell lines of OPN-wt and iOPN were cultured in osteogenic differentiation medium containing ascorbic acid or BMP9 with or without doxycycline. Total RNAs were isolated, reverse-transcribed and analyzed by real-time PCR analyses of osteogenic gene expressions. **Results:** Real-time PCR results showed that the mRNA expression of osteoblast differentiation marker genes such as Bsp, Osterix (Osx), and Osteocalcin (Ocn), were enhanced by doxycycline in MC3T3-E1-Tet-on OPN-wt cell line induced to differentiate by ascorbic acid. In contrast, doxycycline treatment significantly decreased mRNA levels of Bsp, Osx, and Ocn in MC3T3-E1-Tet-On iOPN cell line. Similarly, the induced overexpression of OPN-wt enhanced osteoblastic differentiation by the treatment of BMP-9, while that of iOPN cell line caused the opposite. **Conclusion:** Our data indicated the different roles of secreted and intracellular OPN isoforms during osteoblast differentiation. Further studies are warranted to explore regulatory mechanisms of expression and functions of OPN isoforms in osteoblasts.

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

---

### 3-O10-F2 LC3の阻害は破骨細胞の成熟を抑制し、歯周病モデルの骨破壊を抑制する

○日浦 史隆<sup>1</sup>, 川端 由子<sup>2</sup>, 溝上 顕子<sup>3</sup>, 自見英治郎<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔細胞工学, <sup>2</sup>九大 院歯 口腔機能分子, <sup>3</sup>九大 院歯 OBT 研セ

オートファジーは、細胞が自らの一部を分解する非選択的作用であり、老化した細胞小器官や病原体を除去するだけでなく、細胞の恒常性を維持し、分解された細胞成分を再利用することにより、栄養ストレスと飢餓に適応する。微小管関連タンパク質 LC3 は、オートファジーに不可欠なリソソームと融合することにより、余分な細胞質タンパク質を処分する。オートファジーは破骨細胞の分化や機能に関与していることが示されているが、LC3 の骨吸収における役割は不明な点が多い。本研究では、LC3 の脂質化を抑制することでオートファジーを抑制する NSC185058 (NSC) を用いて破骨細胞の骨吸収における LC3 の役割と NSC185058 の歯周病治療薬としての可能性を検討した。マウス骨髄細胞に M-CSF を 2 日間加え、破骨細胞前駆細胞を誘導した後に RANKL を添加する 1 時間前に様々な濃度の NSC185058 で前処理すると NSC の濃度依存的に破骨細胞形成が抑制された。破骨細胞分化過程の前、中、後期にそれぞれ細胞傷害を示さない 5 μM の NSC を加えると、中～後期に加えることで破骨細胞の多核化が抑制され、*DC-STAMP*、*CathK* などの成熟破骨細胞のマーカーの発現も低下した。次に骨芽細胞と骨髄細胞の共存培養から得られた成熟破骨細胞を象牙片上に播種し、NSC 存在下、非存在下で 48 時間培養すると NSC 添加群でアクチンリング形成と吸収窩形成が抑制された。さらに 8-10 週齢の野生型雄マウス上顎右側第二大臼歯を絹糸で結紮した歯周炎モデルマウスに NSC を投与し、7 日後に歯槽骨の 3 次元的解析と組織学的解析を行ったところ、NSC 投与群で破骨細胞数の減少による歯槽骨の吸収が抑制された。以上の結果より、LC3 は破骨細胞の成熟過程に重要で、LC3 の阻害は歯周病治療の新たな治療戦略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。

### Inhibition of LC3 suppresses osteoclast maturation and bone destruction in periodontal disease models

○Hiura F<sup>1</sup>, Kawabata Y<sup>2</sup>, Mizokami A<sup>3</sup>, Jimi E<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Sect Aging Sci Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Autophagy is a non-selective action in which cells degrade parts of themselves, reusing degraded cellular components. The microtubule-associated protein LC3 degrades excess cytoplasmic proteins by fusing with lysosomes, which are essential for autophagy. Although autophagy has been shown to be involved in osteoclastic bone resorption, the role of LC3 in bone resorption remains unclear. When M-CSF was added to mouse bone marrow cells to induce osteoclast precursor cells and then pretreated with various concentrations of NSC185058 1 h before RANKL treatment, osteoclastogenesis was suppressed in a dose-dependent manner of NSC. Addition of NSC in the late stages of osteoclast differentiation suppressed multinucleation with reduced the expression of markers for mature osteoclasts such as *DC-STAMP* and *CathK*. NSC also suppressed actin ring formation and pit formation in mature osteoclasts. When 8-week-old male mouse with a periodontitis model in which the right maxillary second molar was ligated with silk thread were injected with or without NSC, an alveolar bone resorption was suppressed due to a decrease in the number of osteoclasts in the NSC-treated group. These results suggest that LC3 is important for the maturation of osteoclasts, and that inhibition of LC3 is a new therapeutic strategy for periodontal disease.

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

### 3-O10-F3 充実環境による閉経後骨粗鬆症・体重増加に対する抑制効果

○鞠 超然<sup>1</sup>, 川端 由子<sup>1</sup>, 李 傲男<sup>1</sup>, 黄 菲<sup>1</sup>, 片桐 岳信<sup>2</sup>, 自見英治郎<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔細胞工学, <sup>2</sup>埼玉医大 医 ゲノム基礎, <sup>3</sup>九大 院歯 OBT 研究セ

閉経後骨粗鬆症と体重増加およびエネルギー代謝の低下は閉経後女性 QOL 改善の重大な課題の 1 つである。心理社会的ストレスは、骨代謝やエネルギー代謝に寄与することが知られているが、環境の充実度が閉経後骨粗鬆症と体重増加およびエネルギー代謝に与える影響は不明である。我々は閉経後骨粗鬆症モデルである卵巣摘出術 (OVX) を行なったマウスを標準的な飼育環境 (Standard Condition: SC), SC に柔らかい床敷, トンネルやランニングホイールを入れた「充実環境」(Enriched Environment: EE), および単独で飼育する孤立環境 (Isolation: IS) で飼育し, 骨量減少と体重増加を検討した。野生型雌マウス (8 週齢) を SC, EE および IS 飼育条件下で 1 週間飼育した後に偽手術 (sham) および, OVX を行い, さらに継続して EE, SC, および IS 条件下で 4 週間飼育した。4 週飼育後に骨量減少の度合いを micro CT 撮影による 3 次元的解析, 骨密度測定, および組織学的解析を行ったところ, sham 群では各飼育環境間で骨密度の差はなかったが, OVX 群では EE>SC>IS の順で骨密度が低下していた。また組織学的解析では, 脂肪髄も骨密度同様に EE>SC>IS の順で減少した。sham 群では各飼育環境間で体重変化の差はなかったが, OVX 群では SC=IS>EE の順で体重が増加した。さらに脂肪組織重量は SC>IS>EE で大きく, EE 飼育環境では sham 群でも脂肪重量が低かった。また EE 飼育環境の OVX 群では他飼育環境より血糖値も低値を示した。以上の結果より, 充実環境が閉経後骨粗鬆症と体重増加の抑制およびエネルギー代謝を改善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。

### Inhibitory effects on postmenopausal osteoporosis and weight gain in enriched environment

○Ju C<sup>1</sup>, Kawabata Y<sup>1</sup>, Li A<sup>1</sup>, Huang F<sup>1</sup>, Katagiri T<sup>2</sup>, Jimi E<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Lab Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Div Biomed Sci, RCGM, Saitama Med Univ, <sup>3</sup>OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Postmenopausal osteoporosis and weight gain are one of the major issues in improving postmenopausal women's quality of life. Psychological and social stress is known to contribute to bone and energy metabolisms, but the effect of environmental enrichment on postmenopausal osteoporosis and weight gain is unknown. Wild-type female mice (8-weeks old) were performed ovariectomy (OVX) or sham operation and further maintained in standard condition (SC), enriched environment (EE), and isolation (IS) for 4 weeks. A micro-computed tomography analysis showed that OVX-induced decreased BMD was suppressed in EE compared with SC or IS, but not sham groups. The histological analysis showed decreased adipose tissue in bone marrow was observed in OVX group of EE. In the sham group, there was no difference in body weight change among each environments, but in the OVX group, the body weight increased in SC or IS, but not in EE. Furthermore, the adipose tissue weight was also larger in SC or IS, but not EE. In the OVX group in the EE, the blood glucose level was also lower than in other environments. These results suggest that an enriched environment can suppress postmenopausal osteoporosis and weight gain, and improve energy metabolism.

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

---

### 3-O10-F4 Runx2 の新規標的分子の同定と骨形成における機能的役割

---

○高畑 佳史, 村上 智彦, 波多 賢二, 西村 理行

阪大 院歯 生化

【背景・目的】マウスジェネティクスとヒト遺伝子学の研究より、転写因子 Runx2 が骨形成に必須であることが示されている。Runx2 は、Osteocalcin, BSP, DMP1 などの骨特異的遺伝子の発現を制御しているが、これら遺伝子のノックアウト (KO) マウスの骨における表現型は、Runx2 KO マウスに比べると非常に軽微である。したがって Runx2 は、未知の骨形成関連遺伝子を転写標的とし、骨形成を制御している可能性が推察される。そこで本研究では、Runx2 の新規標的遺伝子を同定し、骨形成に対する関与の解明を目指した。【方法・結果】マウス胚芽細胞に BMP2 あるいは Runx2 を過剰発現させ、遺伝子発現プロファイルを RNA-seq にて解析を行い、マトリックスタンパク質群の中で、発現上昇した遺伝子 Smoc1 と Smoc2 に着目した。骨芽細胞分化に対する Smoc1 と Smoc2 の役割を解明するため、shRNA を用いて Smoc1 と Smoc2 をノックダウンすると、ALP 活性と石灰化能が著明に阻害された。さらに生体における Smoc1 と Smoc2 の機能的役割を明らかにするために、Smoc1 と Smoc2 の KO マウスを作製した。Smoc1 KO マウスでは、腓骨が消失していた。一方、Smoc2 KO マウスでは骨格に明確な表現型を認めなかった。Smoc1 と Smoc2 は同じファミリーに属するマトリックスタンパク質であり、機能的に代償している可能性が高く、Smoc1 と Smoc2 のダブルノックアウト (DKO) マウスを作製した。驚くべきことに、Smoc1/2 DKO マウスでは、頭蓋骨が完全に消失しており、脛骨に強い彎曲と dwarf 様の表現型を示した。Smoc1/2 DKO マウスの脛骨を病理組織学的に解析した結果、Runx2, Osterix などの後期マーカーの発現が低下しており、肥大化以降の内軟骨性骨形成が遅延していることが認められた。【考察】以上の実験結果より、Smoc1 と Smoc2 は Runx2 の新規標的遺伝子であり、Runx2 による膜性骨形成ならびに内軟骨性骨形成の制御過程において、重要な役割を果たしていることが示された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Identification of novel target genes of Runx2 and their functional roles in bone formation

---

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

Dept Mol Cell Biochem, Osaka Univ Grad Sch Dent

[Background and Purpose] The transcription factor, Runx2, plays an essential role in bone formation. Although several target genes of Runx2 were isolated, the functional target genes are still elusive. In this study, we attempted to identify the functionally important targets of Runx2 and dissect the role of them in bone formation. [Method and Result] We have found that Runx2 and Bmp2, an upstream of Runx2, upregulated Smoc1 and Smoc2 by performing RNA-seq analyses. Dominant-negative Runx2 suppressed Smoc1 and Smoc2 expression. Smoc1 or Smoc2 knockdown inhibited osteoblast differentiation. Smoc1 KO mice showed no fibula formation, while Smoc2 KO mice had no clear skeletal phenotypes. Surprisingly, Smoc1 and Smoc2 double KO (DKO) mice completely lacked skull formation, shortening of tibia, and fusion of toes. The DKO mice also showed impaired late stage of cartilage development. [Discussion] Collectively, Smoc1 and Smoc2 function as novel target genes for Runx2, and play critical important roles in intramembranous and endochondral ossification.

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

---



---

**3-O11-F1 S-アデノシルメチオニン**はポリアミン産生だけでなく増殖因子の遺伝子発現を促進することによって軟骨分化を促進する.

---

○ホアンディン ロック<sup>1,2</sup>, 青山絵理子<sup>1</sup>, 久保田 聡<sup>3</sup>, 窪木 拓男<sup>2</sup>, 滝川 正春<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 歯先端研セ, <sup>2</sup>岡大 院医歯薬 インプラント, <sup>3</sup>岡大 院医歯薬 口腔生  
化

---

**S-adenosylmethionine induces chondrocytic differentiation not only as source of polyamine production but also by stimulating growth factor genes expression**

---

○Hoangdinh L<sup>1,2</sup>, Aoyama E<sup>1</sup>, Kubota S<sup>3</sup>, Kuboki T<sup>2</sup>, Takigawa M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ARCOCS, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharma Sci, <sup>2</sup>Dept Oral Rehabilitation and Reg Med, Grad Sch Med, Dent and Pharma Sci, Okayama Univ, <sup>3</sup>Dept Biochem and Mol Dent, Okayama Univ, Grad Sch Med, Dent and Pharma Sci

---

Background and Objective: S-adenosyl methionine (referred as SAM) is naturally distributed throughout the body tissues and fluids and functions as a universal methyl donor for the methylation pathway, or an important role in polyamine synthesis, or a precursor of antioxidant-factor cysteine. Some research groups have extensively investigated SAM's impact and implied the antidepressant effect and management of liver disease, but the final judgment on osteoarthritis has yet reliable evidence. In this present work, we focus on the potential role and mechanism of SAM in chondrocyte differentiation. Material/Method: To this end, human chondrosarcoma-derived cell line (HCS-2/8) and rat chondrosarcoma-derived cell line (RCS) were cultured in the presence of SAM with or without sardomozide, an inhibitor of adenosylmethionine decarboxylase AMD1 that decarboxylates SAM to dcSAM. Alcian Blue (AB) staining, DAPI staining, and high-performance liquid chromatography (HPLC) were carried out to evaluate the aggrecan accumulation, cell proliferation, and polyamine production, respectively. In addition, the mRNA expression of cartilage markers (ACAN, COL2A1) and chondrogenesis associated genes (CCN2, BMP2, BMP4, GDF5) were analyzed by Reverse-Transcription quantitative Polymerase Chain Reaction (RT-qPCR). Results: The AB staining revealed that aggrecan accumulation was likely enhanced by exogenous SAM administration both in HCS2/8 and RCS. As our expected consequence, the SAM-enhanced aggrecan accumulation was attenuated in the presence of Sardomozide. However, DAPI-stained cells showed no response to cell proliferation by additive SAM. In respect of gene expression, RT-qPCR exhibited that exogenous SAM addition could promote mRNA expression of cartilage markers (ACAN, COL2a1) and chondrogenesis associated genes (CCN2, BMP2, BMP4, GDF5). Moreover, increasing levels of polyamine production (spermine and spermidine) induced by external SAM addition were confirmed as the result of HPLC performance. Discussion: These data intimated that SAM could lead to chondrocytic differentiation via several pathways such as polyamine synthesis and genetically cartilaginous stimulation, which is useful to elucidate the mechanism underlying SAM's impact on OA.

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

---

---

### 3-O11-F2 NF- $\kappa$ B シグナルの調節メカニズムは閉経後骨粗鬆症と体重増加に関与する

---

○黄 菲<sup>1</sup>, 高 靖<sup>1</sup>, 李 傲男<sup>1</sup>, 溝上 顕子<sup>2</sup>, 自見英治郎<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔細胞工学, <sup>2</sup>九大 院歯 OBTセ

---

#### The regulatory mechanism of NF- $\kappa$ B signals involved in postmenopausal osteoporosis and weight gain

---

○Huang F<sup>1</sup>, Gao J<sup>1</sup>, Li AN<sup>1</sup>, Mizokami A<sup>2</sup>, Jimi E<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

---

Postmenopausal women are experienced weight gain and loss of bone resulting in increased risk of fractures and developing a variety of diseases, including metabolic syndrome and breast cancer. The purpose of this study is to clarify the molecular mechanism of NF- $\kappa$ B signals which might be involved in postmenopausal osteoporosis and weight gain. We generated knock-in mice in which NF- $\kappa$ B signaling is constantly activated, by expressing a mutant p65 with an serine-to-alanine substitution at position 534 (S534A KI mice). Wild-type (WT) and S534A KI mice were performed sham operation or ovariectomy (OVX) and further maintained by normal diet for 12 weeks to analyze the energy and bone metabolism. Glucose tolerance test (GTT) and 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 ( $\mu$ CT). Adipocyte differentiation was examined using stromal vascular fraction (SVF) prepared from adipose tissue of WT or S534A KI mice. S534A KI 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 S534A KI mice compared with WT mice in OVX group, but no significant differences were found in daily food intake among these four groups. Histological analysis showed adipocyte size of S534A KI mice was also larger than WT mice and less hepatic glycogen storage in S534A KI mice in OVX group than other groups. GTT and ITT revealed that S534A KI mice in OVX group were resistant to the glucose-lowering effect of insulin compared with WT mice. Furthermore, intraperitoneal injection of insulin into mice induced activation of insulin signaling in WT liver and adipose tissue which were suppressed in S534AKI mice. In addition, decreased total BMD was observed in 4 weeks after OVX in both WT and S534A KI mice, which was more prominent in S534A KI mice. SVF cells in S534A KI mice were more likely to differentiate into adipocytes containing increased lipid droplets than in WT mice, indicating that KI mice upregulated adipogenesis due to increased expression of PPAR- $\gamma$  in adipocytes. Taken together, the these results indicated that S534AKI mice are subject to obesity and osteoporosis compared with WT mice, suggesting that the activation of NF- $\kappa$ B enhances obesity and osteoporosis caused by estrogen deficiency.

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

---

---

### 3-O11-F3 乳歯歯髓幹細胞培養上清は M2 マクロファージ誘導を介してマウス変形性顎関節症を改善する

---

○Xia Linze<sup>1,2</sup>, 加納 史也<sup>2</sup>, 橋本 登<sup>2</sup>, 田中 栄二<sup>1</sup>, 山本 朗仁<sup>2</sup>

<sup>1</sup>徳大 院医歯薬 顎顔面矯正, <sup>2</sup>徳大 院医歯薬 組織再生制御

---

#### Conditioned medium from stem cells of human exfoliated deciduous teeth ameliorates temporomandibular joint osteoarthritis by inducing M2-polarized macrophages

---

○Xia L<sup>1,2</sup>, Kano F<sup>2</sup>, Hashimoto N<sup>2</sup>, Tanaka E<sup>1</sup>, Yamamoto A<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Orthod Dentofac Orthop Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, <sup>2</sup>Dept Anat Histol Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

---

**Purpose:** Temporomandibular joint osteoarthritis (TMJOA) is a degenerative joint disease, characterized by progressive cartilage degradation, abnormal subchondral bone remodeling, and chronic pain. Our previous study has shown that intravenous administration of the conditioned medium from the stem cells of human exfoliated deciduous teeth (SHED-CM) effectively regenerates the mechanically injured TMJ articular cartilage. Herein, we aimed to further clarify the underlying therapeutic mechanisms.

**Materials & Methods:** Mouse TMJOA was induced by forced-mouth-opening with customized spring. Pro- (M1) and anti-inflammatory (M2) properties of macrophages integrated into the synovial membrane of TMJOA were examined by immunohistostaining. Specific M2 depletion with mannosylated-Clodrosome was performed to explore the functions of M2 macrophages in SHED-CM treated TMJOA. Pathological alterations were then detected by micro-CT and histological staining. We next examined the therapeutic potential of CM from SHED-CM-induced M2 macrophages (M2-CM) for mouse TMJOA and IL-1b-stimulated mouse primary chondrocytes. Proteomic analysis was performed to explore the potential therapeutic factors in M2-CM.

**Results:** SHED-CM treatment markedly increased the number of CD206-expressing M2 macrophages in mouse TMJOA synovium. M2 depletion suppressed the anti-inflammatory and condylar repairing activities of SHED-CM. Intravenous administration of M2-CM effectively suppressed the proinflammatory iNOS, IL-1b, MMP13 expression, and osteoclastic activity in TMJOA cartilage and subchondral bone, respectively. However, the cartilage matrix synthesis marker, PCNA, and Sox9 were promoted by M2-CM treatment. Moreover, in IL-1b-stimulated mouse primary chondrocytes, M2-CM administration also inhibited the iNOS and MMP13 expression but increased the cartilage matrix marker collagen II and aggrecan level.

**Conclusion:** Our findings suggest that SHED-CM exerts the promising therapeutic efficacy for TMJOA by inducing M2-polarized synovial macrophages.

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

---

---

### 3-O11-F4 軟骨細胞における *CCN2* 由来環状 RNA の発現

---

○加藤 壮真<sup>1,2</sup>, 河田かずみ<sup>1</sup>, 西田 崇<sup>1</sup>, 久保田 聡<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 口腔生化, <sup>2</sup>岡大 院医歯薬 口腔再建外科

---

【目的】 Cellular communication network factor (*CCN*) 2 分子は内軟骨性骨化および関節軟骨の再生を促進する。一方、環状 RNA (circRNA) が様々な遺伝子から生じ、miRNA を吸着するなどして遺伝子発現を制御することが知られている。*CCN2* からヒト血管内皮細胞等では circRNA が作られることは確認されている。しかし軟骨細胞における *CCN2* 由来 circRNA の機能に関して全く不明であることはもちろん、実際に *CCN2* から出力される circRNA が存在するのかすら不確かである。今回我々は軟骨細胞における *CCN2* 由来の circRNA の発現をまず検証した。【材料・方法】 A. ヒト軟骨細胞様 HCS-2/8 細胞から RNA を精製し、他細胞で報告のある *CCN2* 由来 circRNA を特異的に増幅できるプライマーを設計・合成し、それを用いて RT-PCR を行った。その後アガロース電気泳動により増幅産物の塩基対数を推定し、予想される大きさと比較した。B. PCR 産物をプラスミドに組み込み、その塩基配列を決定した。C. 直鎖状 RNA に作用し circRNA には作用しない RNase R で処理を行い、A と同様の検討を行った。D. マウス軟骨前駆細胞株 ATDC5 から分化を誘導しつつ経時的に RNA を回収・精製し当該部分から生成するマウス circRNA を認識するプライマーを用いて上記と同様に解析した。【結果】 A. HCS-2/8 細胞において、RT-PCR 後の電気泳動で予想された位置にバンドが確認され、*CCN2* 由来の circRNA の発現が示唆された。B. 当該 PCR 産物の塩基配列は現在までに報告されている circRNA とは異なることが明らかとなった。C. また RNase R 処理後の RNA から A で認められた部位にバンドを認めたことから増幅産物が circRNA 由来であることが確認された。D. マウス ATDC5 細胞にも同種の circRNA 存在が示唆された。【結論】 軟骨細胞においても *CCN2* 分子をコードする RNA から circRNA が作られていた。現在この circRNA が軟骨細胞分化に関与している可能性を探索している。【非会員共同研究者】：水川朋美, 明石翔

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

### Expression of a circular RNA from *CCN2* in chondrocytes

---

○Kato S<sup>1,2</sup>, Kawata K<sup>1</sup>, Nishida T<sup>1</sup>, Kubota S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med & Dent, <sup>2</sup>Dept Oral Maxillofac Reconstr Surg, Okayama Univ Grad Sch Med & Dent

---

Cellular communication network factor (*CCN*) 2 promotes endochondral ossification and articular cartilage regeneration, whereas circular RNAs (circRNAs) produced from many genes regulates their expression as RNA sponge. Although human cells including vascular endothelial cells produce *CCN2*-derived circRNAs, not only the function, but also even the presence of such a circRNA remain unclear in chondrocytes. In this study, we investigated the expression of *CCN2*-derived circRNAs in chondrocytes. RT-PCR of the RNA from chondrocytic HCS-2/8 cells was performed using primer sets which specifically amplify the *CCN2*-derived circRNAs. By subsequent electrophoresis, an amplicon was observed at a position comparable to that of a predicted one. The nucleotide sequence of the PCR product indicated that the circRNA is a novel molecule. Moreover, the fact that the PCR product was still generated from RNA samples after RNase R treatment confirmed that the amplicon was from an RNase R-resistant circRNA. Finally, similar experiments with RNA from mouse chondrocytic ATDC5 cells cultured under chondrocytic differentiation conditions suggested the presence of a murine orthologue, the expression level of which was changed along chondrocytic differentiation. These results suggest that *CCN2* locus produces a novel circRNA that may function during chondrocytic differentiation.

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

---



### 3-O12-D1 歯周炎による SARS-CoV-2 のプライミング因子である TMPRSS2 の歯肉発現増強

○大西 智和<sup>1</sup>, 中村 利明<sup>2</sup>, 嶋 香織<sup>3</sup>, 野口 和行<sup>2</sup>, 千葉 紀香<sup>1</sup>, 松口 徹也<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鹿大院医歯 口腔生化, <sup>2</sup>鹿大院医歯 歯周病, <sup>3</sup>鹿大院医歯 口腔病理

口腔は SARS-CoV-2 の主要な侵入部位の一つであり、歯肉は外気に近い組織である。歯肉ケラチノサイトは SARS-CoV-2 の受容体、Angiotensin-converting enzyme 2 とそのプライミング因子である膜貫通型セリンプロテアーゼ 2 (TMPRSS2) を発現し、COVID-19 患者の歯肉や歯肉溝滲出液からは SARS-CoV-2 が検出されている。また、歯周炎と COVID-19 重症化において相関関係も報告されている。そこで、歯周炎の SARS-CoV-2 の歯肉感染性への影響を調べるため、歯周炎の歯肉 TMPRSS2 発現への影響を検討した。まず、Gene Expression Omnibus (GEO) データセットからヒト歯肉組織における TMPRSS2 の発現を検討したところ、歯周炎が TMPRSS2 の発現を増加される事が判明した。この現象は、実験的歯周炎マウスモデルによっても確かめられた。さらに、ヒト歯肉組織を免疫組織化学的に染色したところ、正常歯肉に比べ歯周炎を伴う歯肉では TMPRSS2 はケラチノサイトの細胞膜に発現していることが判明した。ChIP-Atlas と GEO データセットを用いて、歯周炎歯肉に高発現する TMPRSS2 プロモーター領域に結合する転写因子のスクリーニングを行った。その結果、エストロゲン受容体 1 (ESR1) を候補として見出した。ヒト歯肉における ESR1 の発現は TMPRSS2 発現と相関を示し、また培養ケラチノサイトにおいて ESR1 リガンドは TMPRSS2 の発現を誘導した。以上の結果は、歯周炎による歯肉ケラチノサイトの SARS-CoV-2 プライミング因子 TMPRSS2 の発現増加と、この現象における ESR1 の関与を示唆している。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### Periodontitis promotes gingival expression of TMPRSS2, a priming factor for SARS-CoV-2

○Ohnishi T<sup>1</sup>, Nakamura T<sup>2</sup>, Shima K<sup>3</sup>, Noguchi K<sup>2</sup>, Chiba N<sup>1</sup>, Matsuguchi T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med and Dent Sci, <sup>2</sup>Dept Periodontol, Kagoshima Univ Grad Sch Med and Dent Sci, <sup>3</sup>Dept Oral Pathol, Kagoshima Univ Grad Sch Med and Dent Sci

One of the main routes of infection for SARS-CoV-2 is the oral cavity. Gingival keratinocytes express transmembrane serine protease 2 (TMPRSS2), responsible for priming the SARS-CoV-2 spike protein. We investigated whether periodontal disease increased the gingival expression of TMPRSS2 to suggest that periodontitis increases the susceptibility to gingival infection with SARS-CoV-2. We analyzed the expression of TMPRSS2 in human gingiva from the Gene Expression Omnibus (GEO) dataset and found that periodontitis increased the expression of TMPRSS2. We confirmed this result with an experimental mouse model of periodontitis. Furthermore, immunohistochemical staining of human gingiva revealed that TMPRSS2 was expressed on the plasma membrane of keratinocytes in gingiva with periodontitis. We screened for transcription factors that bind to the TMPRSS2 promoter region highly expressed in periodontitis gingiva. We found estrogen receptor 1 (ESR1) as one candidate, and found that ESR1 expression in human gingiva correlated with TMPRSS2 expression, and ESR1 ligand-induced TMPRSS2 expression in cultured keratinocytes. These results suggested that periodontitis increases the expression of the SARS-CoV-2 priming factor TMPRSS2 in gingival keratinocytes and the involvement of ESR1 in this phenomenon.

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

### 3-O12-D2 転写因子 NF- $\kappa$ B の新たな活性化制御機構とその機能解析

○青木 司<sup>1,2</sup>, 松田 美穂<sup>2</sup>, 自見英治郎<sup>2</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 歯周, <sup>2</sup>九大 院歯 口腔細胞工学

転写因子 NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor- $\kappa$ B: NF- $\kappa$ B) は炎症反応や免疫応答に重要な遺伝子の発現を調節する。近年, I $\kappa$ B $\alpha$  のリン酸化・分解による活性制御のほかに, NF- $\kappa$ B のメインサブユニットである p65 のリン酸化が転写活性の調節に重要であることが報告されているが, その生理機能は不明な点が多い。本研究では p65 のリン酸化部位の中で特に報告の多い 536 番(マウスでは 534 番: S534)のセリン残基の生理機能を解明するために, アラニンに置換したノックイン (S534A KI) マウスを作製した。本マウスは, 野生型 (WT) マウスと比べて外見上, および主要組織の組織形態に差異はなかった。WT および S534KI マウスから調製したマウス胎仔線維芽細胞 (MEF) を TNF $\alpha$  で刺激し, NF- $\kappa$ B および MAPK 経路の活性化を検討したところ, WT MEF と比較して, S534A MEF では S534 のリン酸化が認められず, I $\kappa$ B $\alpha$  のリン酸化および MAPK 経路の主要分子の発現量およびリン酸化に影響はなかった。一方, NF- $\kappa$ B の転写活性, および IL-1 $\beta$  等の NF- $\kappa$ B 標的遺伝子の発現量が亢進した。また各々の MEFs を用いた RNA-seq の結果から, S534A MEF では細胞外基質の分解に関わる分子群の発現が上昇していた。次に 8-10 週齢の雄 WT および S534A KI マウス上顎右側第二大臼歯を 6-0 絹糸で結紮した歯周炎モデルマウスを用いて, 7 日後に歯槽骨の 3 次元解析, 組織学的解析および歯周組織の遺伝子発現解析を行った。S534A KI マウスで歯槽骨の骨吸収が有意に増加し, 歯周組織の IL-1 $\beta$  や RANKL の遺伝子発現が亢進した。また, 歯槽骨吸収部に多数の破骨細胞数が存在した。以上より, p65 の 536 番セリンのリン酸化は, 炎症反応を負に調節することが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### Analysis of novel regulatory mechanism of nuclear factor - $\kappa$ B

○Aoki T<sup>1,2</sup>, Matsuda M<sup>2</sup>, Jimi E<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sect Periodontol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) regulates the expression of various genes involved in inflammation and immunity. Numerous reports suggest the importance of serine at 536 (534 in mice; S534) of the p65 subunit, but its physiological function is unknown. To reveal the physiological role of S534 phosphorylation, we generated S534A knock-in (KI) mice, in which S534 of p65 was substituted with alanine. There was no significant difference in growth and major tissue morphology between wild-type (WT) and S534A KI mice. We prepared mouse embryonic fibroblasts (MEF) of each genotype and stimulated them with TNF $\alpha$ . S534A substitution did not affect TNF $\alpha$ -induced degradation of  $\kappa$ B and expression, as well as phosphorylation of MAPK molecules, while transcriptional activity and expression level of target gene (e. g. IL-1 $\beta$ ) of NF- $\kappa$ B was higher in S534A MEFs. RNA-seq revealed the increased expression of genes associated with the degradation of extracellular matrix in S534A. To investigate the effect of S534A in vivo, we performed ligature-induced periodontitis in WT and S534A mice. Alveolar bone resorption was enhanced in S534A mice, with increased osteoclast number and gene expression (RANKL and IL-1 $\beta$  in periodontal tissues). These results suggest that the phosphorylated S534 of p65 negatively regulates inflammatory responses.

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

---

### 3-O12-D3 血小板由来成長因子 (PDGF-BB) は再植歯においてアンキローシスを抑制し歯根膜の支持機能修復を促進する

---

○小松浩一郎, 出野 尚, 中島 和久, 二藤 彰

鶴大 歯 薬理

歯根膜は歯の再植あるいは移植後に機能的に修復する。しかし、病的なりモデリング過程で過度な石灰化を伴うアンキローシスが起る。今回我々は PDGF-BB が、再植時にアンキローシスを抑制すること、さらには歯根膜の機能的修復を示すことを実験モデルで示し、その分子メカニズムについて興味ある知見を得たので報告する。【方法】(1)ラット再植歯モデル:麻酔下で抜去した上顎第一臼歯を rPDGF-BB (PDGF 群) 或いは溶媒 (AC 群) に浸漬後、再植した。経時的に上顎を摘出し、PDGF 群と AC 群について組織学的解析および歯根膜機能的試験としての再植歯歯根膜の引抜強度の解析を行った。(2)ヒト歯根膜細胞を用い、PDGF 処理ならびに Wnt (Wnt 3a) 処理後の、増殖、遊走性と分化に対する影響を BrdU uptake, wound scratch assay, real-time qPCR およびウェスタンブロットによって解析した。【結果及び考察】再植 21 日目に AC 群は PDGF 群と比べ多くの再植歯でアンキローシスが認められた。PDGF 群では再植歯歯根膜の引抜強度は非再植歯の値の約 70% まで回復した。組織学的解析により、PDGF-B 群での BrdU 陽性細胞の増加と、コラーゲン繊維の配向性の回復を観察した。また、AC 群で見られた歯根膜での OC 陽性細胞と  $\beta$ -catenin の核内局在が、PDGF により減少していた。さらに PDGFR $\beta$  受容体は AC 群で限局した局在が見られたが、PDGF-BB 処理により歯根膜全体に陽性細胞が見られた。ヒト歯根膜細胞に Wnt 3a を添加すると、PDGF 処理により増殖が活性化し、また Wnt シグナルの標的遺伝子の発現が上昇した。更に Wnt 3a 処理により活性化された active  $\beta$ -catenin が PDGF により抑制された。従って、PDGF は歯根膜リモデリングにおいて細胞増殖と遊走の活性化のみならず、Wnt シグナルの活性化抑制によってアンキローシスを抑制する可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Platelet-derived growth factor (PDGF-BB) regenerates functional periodontal ligament repressing ankylosis in tooth replantation

---

○Komatsu K, Ideno H, Nakashima K, Nifuji A

Dept Pharmacol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Tooth ankylosis is a pathological condition of periodontal ligament (PDL) restoration after tooth replantation. The molecular mechanisms of ankylosis and approaches to prevent it remain to be elucidated. Here, we found that application of PDGF-BB prevents ankylosis in a rat molar replantation model. We also investigated how PDGF-BB accelerates the repair of PDL without ankylosis after replantation.

In PDGF-BB pretreated replanted teeth (PDGF group), ankylosis was markedly reduced and functionally organized PDL collagen fibers were restored; the mechanical strength of healing PDL was restored to about 70% of that in non-replanted teeth. The numbers of PDGF-R $\beta$ - and BrdU-positive cells were greater in the periodontal tissues of the PDGF group compared to those of atelocollagen pretreated replanted teeth (AC group). Moreover, the periodontal tissues in the PDGF group had fewer osteocalcin-positive cells and decreased number of nuclear  $\beta$ -catenin-positive cells compared to those in the AC group. In vitro, PDGF-BB increased the proliferation and migration of human PDL fibroblasts, downregulated mRNA expressions of RUNX2 and ALP, and inhibited Wnt signaling upregulations.

These findings indicate that in tooth replantation, PDGF-BB enhances cell proliferation and migration, and inhibits canonical Wnt signaling activation in ankylosis, leading to functional restoration of the healing PDL.

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

---

### 3-O13-D1 レニン-アンジオテンシン系が歯周病による心機能低下に及ぼす影響

○清本 賢一<sup>1</sup>, 吹田 憲治<sup>2</sup>, 大貫 芳樹<sup>2</sup>, 松尾 一郎<sup>1</sup>, 角田 通則<sup>1</sup>, 森井 彰伸<sup>1</sup>,  
伊藤 愛子<sup>3</sup>, 石川美紗緒<sup>4</sup>, 五味 一博<sup>1</sup>, 奥村 敏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 歯周病, <sup>2</sup>鶴大 歯 生理, <sup>3</sup>鶴大 歯 矯正, <sup>4</sup>鶴大 歯 解剖 1

【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いる. また, 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, 高血圧治療薬として広く使用されており, 心臓の保護作用があることも知られている. 疫学的調査から, 歯周病の進行が RAS を活性化させることによる心疾患発症を惹起させることが示唆されている. これらの背景から「歯周病が RAS を刺激することにより心機能が低下する」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り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, アポトーシス陽性細胞率を TUNEL 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 ( $P < 0.001$ ) が, Cap 併用投与群の線維化は有意に抑制された ( $P < 0.05$ ). 3) アポトーシス陽性細胞率は PG-LPS 投与群では Control 群に比較して有意に増加した ( $P < 0.01$ ) が, Cap 併用投与群の線維化は有意に抑制された ( $P < 0.01$ ). 【結論】歯周病に起因する心機能低下において 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 dysfunction by periodontitis

○Kiyomoto K<sup>1</sup>, Suita K<sup>2</sup>, Ohnuki Y<sup>2</sup>, Matsuo I<sup>1</sup>, Tsunoda M<sup>1</sup>, Morii A<sup>1</sup>, Ito A<sup>3</sup>, Ishikawa M<sup>4</sup>,  
Gomi K<sup>1</sup>, Okumura S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tsurumi Univ Sch Dent Med, Dept Periodont, <sup>2</sup>Tsurumi Univ Sch Dent Med, Dept Physiol, <sup>3</sup>Tsurumi Univ Sch Dent Med, Dept Orthodont, <sup>4</sup>Tsurumi Univ Sch Dent Med, Dept Oral Anat

Chronic activation of renin-angiotensin system (RAS) is known to induce myocardial fibrosis and cardiac dysfunction. In addition, captopril (Cap), ACE (Angiotensin Converting Enzyme) inhibitor that suppresses RAS activation, is widely used to treat hypertension and might protect heart from stresses. Systemic exposure to pro-inflammatory factors including lipopolysaccharide (LPS) derived from PG (*Porphyromonas gingivalis*) might contribute cardiovascular disease (CVD). We thus hypothesized that *Porphyromonas gingivalis* LPS (PG-LPS) might activate RAS, leading to cardiac dysfunction. Therefore, in this study, we evaluated cardiac function by echocardiography in mice treated with PG-LPS at a dose equivalent to the circulating level in PD patients with/without 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, as evaluated by ejection fraction, was significantly decreased in PG-LPS-treated mice ( $P < 0.001$ ), which was abolished by Cap. Cardiac fibrosis as evaluated by Masson-trichrome staining and cardiac myocyte apoptosis were significantly increased in PG-LPS-treated mice ( $P < 0.001$  each), which were 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-O13-D2 *Mitf* 遺伝子変異による咬筋リモデリングの誘導

○成山明具美<sup>1</sup>, 大貫 芳樹<sup>2</sup>, 吹田 憲治<sup>2</sup>, 石川美佐緒<sup>3</sup>, 伊藤 愛子<sup>4</sup>, 松尾 一朗<sup>5</sup>,  
早川 佳男<sup>6</sup>, 朝田 芳信<sup>1</sup>, 奥村 敏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 小児歯, <sup>2</sup>鶴大 歯 生理, <sup>3</sup>鶴大 歯 解剖 I, <sup>4</sup>鶴大 歯 矯正, <sup>5</sup>鶴大 歯 歯  
周病, <sup>6</sup>鶴大 歯 麻酔

【目的】小眼球症関連転写調節因子 MITF (Microphthalmia-associated transcription factor) は慢性カテコラミン刺激による心肥大および線維化, アポトーシスの発症過程に重要であることが報告されているが, 咬筋などの骨格筋における生理機能については不明である. そこで, 今回我々は, *mitf* 遺伝子変異型マウス (*mi/mi*) を用いて, この変異が咬筋の線維化, アポトーシス, オートファジー, および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;  $\mu\text{m}^2$ ), 線維化, アポトーシス, オートファジー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, オートファジー, および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. 一方, オートファジー抑制因子である Akt および mTOR のリン酸化レベルが, 有意に増加し, その促進因子である p62 のリン酸化レベルは有意に減少した. また, p62 および LC3 の発現レベルは有意に増加した. 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 (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine) 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 (筋萎縮, 線維化, アポトーシス) を誘導し, そのメカニズムとして, オートファジー機能の抑制と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.

### Effects of microphthalmia-associated transcription factor on oxidative stress and autophagic activity in masseter muscle

○Nariyama M<sup>1</sup>, Ohnuki Y<sup>2</sup>, Suita K<sup>2</sup>, Ishikawa M<sup>3</sup>, Ito A<sup>4</sup>, Matsuo I<sup>5</sup>, Hayakawa Y<sup>6</sup>,  
Asada Y<sup>1</sup>, Okumura S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>3</sup>Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>4</sup>Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>5</sup>Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>6</sup>Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

It has been reported that microphthalmia-associated transcription factor (MITF) plays an important role for the development of cardiac remodeling in response to chronic catecholamine stress. However, the role of MITF in masseter muscle (MA) remains poorly understood. 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. The *mi/mi* also showed the increased phosphorylation of Akt and mTOR and the decreased p62 phosphorylation. In addition, expressions of p62 and LC3 were significantly greater in *mi/mi* than in WT. The *mi/mi* also showed the increased 8-OHdG (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine) positive cells, compared to WT. 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 increased oxidative stress with the inhibition of autophagic activity.

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

### 3-O13-D3 レニンアンジオテンシン系の抑制は咬合異常に起因する心機能障害に対する心臓保護効果を示す

○伊藤 愛子<sup>1</sup>, 大貫 芳樹<sup>2</sup>, 吹田 憲治<sup>2</sup>, 石川美佐緒<sup>3</sup>, 松尾 一郎<sup>4</sup>, 早川 佳男<sup>5</sup>,  
成山明具美<sup>6</sup>, 友成 博<sup>1</sup>, 奥村 敏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 矯正, <sup>2</sup>鶴大 歯 生理, <sup>3</sup>鶴大 歯 解剖 1, <sup>4</sup>鶴大 歯 歯周病, <sup>5</sup>鶴大 歯 麻酔, <sup>6</sup>鶴大 歯 小児歯

【目的】咬合異常は口腔領域に様々な悪影響を及ぼすとともに全身、特に自律神経系に異常をきたす。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、心不全治療の第 1 選択薬として広く臨床応用され心臓リモデリングに対して抑制効果をもつ。本研究では、歯科用レジンを用いたマウスの下顎切歯に装着したマウスモデル (Bite-opening; BO) を用いて「Cpt は咬合不調和により誘発される心機能障害と心筋リモデリングを予防する」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 (0.1g/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, Masson trichrome 染色, TUNEL 染色を行い, メカニズムの解析のためウェスタンブロッティングを行った。【結果】心肥大は, 4 群間で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。線維化ならびに心筋細胞のアポトーシスの割合は, BO 群で有意に増加し, BO + Cpt 群では, その効果が抑制された ( $P < 0.01$  each)。ウェスタンブロッティングより, 線維化に関与する  $\alpha$ -smooth muscle actin は BO 群で有意に増加し ( $P < 0.05$ ), BO + Cpt 群では, その効果が抑制された ( $P < 0.05$ )。アポトーシスを促進タンパク Bax も BO 群で有意に増加し ( $P < 0.01$ ), BO + Cpt 群では, その効果が抑制された ( $P < 0.01$ )。【結論】以上の結果より, RAS の活性化は, BO に起因する心疾患発症に重要な役割を果たしていることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

### Inhibition of renin-angiotensin system protects heart from cardiac dysfunction induced by occlusal anomalies

○Ito A<sup>1</sup>, Ohnuki Y<sup>2</sup>, Suita K<sup>2</sup>, Ishikawa M<sup>3</sup>, Matsuo I<sup>4</sup>, Hayakawa Y<sup>5</sup>, Nariyama M<sup>6</sup>,  
Tomonari H<sup>1</sup>, Okumura H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>3</sup>Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>4</sup>Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>5</sup>Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>6</sup>Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Occlusal disharmony alters not only oral cavity area but also autonomic nervous system in the heart. On the other hand, renin-angiotensin system (RAS) inhibitor captopril (Cpt) is one of the first-line drugs for preventing cardiac remodeling in patients with heart failure. We thus hypothesized that Cpt might prevent cardiac dysfunction induced by occlusal disharmony using a bite-opening (BO) mouse model which was developed by cementing a suitable appliance onto the mandibular incisor. Mice were divided into four groups: 1) Control, 2) BO, 3) Cpt (via drinking water containing 0.1g/L), and 4) Cpt + BO. After 2 weeks, we examined cardiac hypertrophy in terms of cardiac muscle mass per tibia length ratio and they were similar among the four groups. Cardiac fibrosis and myocyte apoptosis in the BO-group were significantly greater, compared to the Control, but these increases were suppressed by Cpt. The  $\alpha$  smooth muscle actin, which is involved in fibrosis, and Bax, an accelerator of apoptosis, were significantly increased in the BO group, but again these increases were suppressed by Cpt. These results suggest that activation of RAS might play an important role for the development of cardiac diseases induced by occlusal anomalies

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

### 3-O13-D4 心臓型アデニル酸シクラーゼ遮断薬（ビダラビン）によるマウス咬合異常モデルに見られる心筋障害に対する保護効果の検討

○早川 佳男<sup>1</sup>, 大貫 芳樹<sup>2</sup>, 吹田 憲治<sup>2</sup>, 石川美紗緒<sup>3</sup>, 伊藤 愛子<sup>3</sup>, 松尾 一朗<sup>4</sup>,  
清本 賢一<sup>4</sup>, 角田 通則<sup>4</sup>, 河原 博<sup>1</sup>, 奥村 敏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 麻酔, <sup>2</sup>鶴大 歯 生理, <sup>3</sup>鶴大 歯 解剖 1, <sup>4</sup>鶴大 歯 矯正

<sup>5</sup>鶴大 歯 歯周病

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。慢性交感神経刺激に対してβ受容体遮断薬が使用されているが、呼吸器疾患、心機能低下がある場合導入が困難である。そこで我々はβ受容体の下流に存在する心臓型アデニル酸シクラーゼの特異的阻害作用を示すビダラビンが、副作用が少なく、かつβ受容体遮断薬と同等の心臓保護効果を示す心不全治療薬と使用できると考えた。[目的]マウス咬合異常（Bite-opening:BO）モデルでは、BOによる口腔のストレスに起因する慢性交感神経刺激状態により心機能障害が誘導される。本研究ではBOモデルに心臓型AC遮断薬（ビダラビン）を併用投与しベータ遮断薬と同等に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（15 mg/kg/day）、4)BO+ビダラビン投与群の4群に分けた。実験開始日より13日目に心機能評価を行い、14日目に心臓を摘出し、組織学、分子生物学的手法を用いて抑制効果を検討した。[結果]心エコーを用いて測定した心拍出量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）。ウエスタンブロットによる発現タンパクの解析により心筋線維化、アポトーシス、酸化ストレスの、Ca<sup>2+</sup>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]慢性交感神経刺激による心機能障害に対して心臓型アデニル酸シクラーゼは有用な治療標的になる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。

### Vidarabine, an anti-Herpes agent, prevents cardiac dysfunction caused by occlusal disharmony without adverse effect on heart function in mice

○Hayakawa Y<sup>1</sup>, Ohnuki Y<sup>2</sup>, Suita K<sup>2</sup>, Ishikawa M<sup>3</sup>, Ito A<sup>3</sup>, Matsuo I<sup>4</sup>, Kiyomoto K<sup>4</sup>,  
Tsunoda M<sup>4</sup>, Kawahara H<sup>1</sup>, Okumura S<sup>2</sup>

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

Chronic activation of sympathetic nerve activity induced by oral stress has been noted as one of the factors leading to cardiovascular diseases. Vidarabine, an anti-herpes drug, was recently reported to have inhibitory effects on cardiac-type (type 5) adenylyl cyclase (AC). We thus hypothesized that vidarabine might be useful for the treatment of cardiovascular disease induced by bite-opening (BO). Mice were divided into four groups: 1) Control, 2) BO, 3) Vidarabine, and 4) BO + Vidarabine. We first examined the effect of BO on cardiac function by echocardiography and found that it was significantly smaller in BO-group, compared to the Control. We next examined the effects of BO on cardiac fibrosis (Masson-trichrome staining), cardiac myocyte apoptosis (TUNEL staining), cardiac myocyte oxidative stress (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine immunostaining; 8OH-dG) and its underlying mechanism. We found that cardiac fibrosis area, TUNEL positive myocyte, 8OH-dG positive myocyte, in addition to the expression of signaling pathway, an accelerator of apoptosis, fibrosis, Ca<sup>2+</sup> regulation, Oxidative stress were significantly greater, compared to the Control. More importantly, these increases were ameliorated by the co-treatment of Vidarabine. These data indicated that type 5 AC might be a useful therapeutic target for the treatment of cardiovascular diseases induced by oral stress such as occlusal abnormality.

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



### 3-O13-D5 *Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS の慢性投与下における心疾患発症には TLR4-NOX4 シグナルが重要である

○松尾 一朗<sup>1</sup>, 吹田 憲治<sup>2</sup>, 早川 佳男<sup>6</sup>, 伊藤 愛子<sup>3</sup>, 石川美紗緒<sup>4</sup>, 成山明具美<sup>5</sup>,  
大貫 芳樹<sup>2</sup>, 五味 一博<sup>1</sup>, 奥村 敏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 歯周病, <sup>2</sup>鶴大 歯 生理, <sup>3</sup>鶴大 歯 矯正, <sup>4</sup>鶴大 歯 解剖, <sup>5</sup>鶴大 歯 小児歯, <sup>6</sup>鶴大 歯 麻酔

【目的】 歯周病は心疾患発症に関与している可能性が報告されている。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) が検出される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) PG-LPS (0.8 mg/kg/day : i.p.) 単独投与群 (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・8-OhdG (酸化ストレスマーカー) 陽性細胞率の組織学的評価, ウェスタンブロット法にて分子生物学的解析を行った。【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) 心筋線維化領域 (Masson-trichrome 染色), 線維化マーカーである  $\alpha$ -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。3) 心筋 8-OHdG 陽性細胞率, 酸化ストレスマーカーである NOX4 は LPS 群では有意に増加したが LPS + TAK 群ではそれらの減少は有意に抑制された。4) 心筋細胞内の筋小胞体での Ca<sup>2+</sup> 調節に重要なリヤノジン受容体 (RYR:ser-2814) のリン酸化は LPS 投与群で有意に増加したが, その増加は TAK 併用群で抑制された。【結論】 PG-LPS の投与による心機能障害は TLR4 シグナル阻害薬 (TAK-242) の併用投与により保護された。以上の結果は歯周病が TLR4-NOX4 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。

### Role of TLR4-NOX4 signaling on *Porphyromonas gingivalis* LPS-induced cardiac dysfunction in mice

○Matsuo I<sup>1</sup>, Suita K<sup>2</sup>, Hayakawa Y<sup>6</sup>, Ito A<sup>3</sup>, Ishikawa M<sup>4</sup>, Nariyama M<sup>5</sup>, Ohnuki Y<sup>2</sup>,  
Gomi K<sup>1</sup>, Okumura S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Physiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>3</sup>Dept Orthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>4</sup>Dept Oral Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>5</sup>Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>6</sup>Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

The periodontitis has been implicated development of cardiovascular disease (CVD). However, the detail mechanism is not unclear of periodontitis mediated-CVD. Lipopolysaccharide is well known activated for Toll-like-receptor4 (TLR4)-NOX4 signaling of cardiomyocyte and induced cardiac dysfunction. The aim of this 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), oxidative stress (8-OhdG staining) were significantly increased by the treatment of PG-LPS, but TAK-242 blocked these changes. These data suggest that chronic PG-LPS infusion play an important role for the development of cardiac dysfunction via activation of TLR4-NOX4 signaling.

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



---

### 3-O14-E1 テストステロンシグナルはミクログリアにおけるオートファジーを増強する

---

○杜 海妍<sup>1</sup>, 溝上 顕子<sup>2</sup>, 兼松 隆<sup>1</sup>, 佐野 朋美<sup>1</sup>, 山脇 洋輔<sup>3</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能分子, <sup>2</sup>九大 院歯 口腔脳機能病態, <sup>3</sup>第一薬科大 先端薬理

---

#### Testosterone signaling enhances autophagic activity in microglia

---

○Du H<sup>1</sup>, Mizokami A<sup>2</sup>, Kanematsu T<sup>1</sup>, Sano T<sup>1</sup>, Yamawaki Y<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Cell Biol Aging Sci, & Pharmacol, <sup>2</sup>OBT Res Cent, Fac Dent, Kyushu Univ, <sup>3</sup>Lab Adv Pharmacol, Daiichi Univ Pharm

---

[Purpose] Epidemiological studies have showed that women are more prevalent to Alzheimer's disease (AD) than men, but the cause of this phenomenon and underlying mechanisms are still unclear. Potential role of testosterone is implicated in the progression of amyloid pathology in AD, as low plasma testosterone, the major sex hormone in males, is reported to be associated with increased risk of AD in men. Microglia, primary innate immune cells in the brain, play a key role in AD by releasing inflammatory cytokines and degrading aggregated amyloid & Beta (A&Beta) via autophagy. Recent studies show that microglial characteristics are dependent on sex, suggesting their involvement in sexually differential AD susceptibility. In this study, we focused on testosterone signaling in microglia and investigated the roles of testosterone in the regulation of autophagic activity. [Materials & Methods] Mouse microglial cell line MG6 was used. Autophagic flux was assessed by immunoblotting and fluorescence microscopy, using phosphatidylethanolamine-conjugated microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3-II) or p62 that mediates the degradation of ubiquitinated proteins by selective autophagy as indicators. [Results & Conclusion] GPRC6A, a G protein-coupled receptor, serves as a testosterone receptor, responsible for its rapid non-genomic action. We confirmed that GPRC6A but not nuclear androgen receptor is expressed in MG6 cells, indicating that testosterone signaling in MG6 is mainly mediated by GPRC6A. We found that testosterone stimulation suppressed the phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) in MG6 cells, which in turn suppressed mTOR activation and promoted autophagy. Stimulation of MG6 cells with A&Beta also induced autophagy. Extracellular A&Beta was observed inside the cells and colocalized with an autophagosome marker LC3. Colocalized LC3 dots indicative of autophagic vacuoles were increased in the co-stimulation with A&Beta and testosterone. These results indicate that testosterone-GPRC6A signaling enhances A&Beta-induced autophagy in microglia and thus may play a crucial role in men's low AD susceptibility.

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

---

### 3-O14-E2 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<sup>1</sup>, 佐藤 寿哉<sup>2</sup>, イスラム ナディム<sup>2</sup>, 齊藤 正人<sup>1</sup>, 石井 久淑<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北医療大 歯 小児歯, <sup>2</sup>北医療大 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。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ことが報告されているが, 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。これまでに歯肉には副交感性血管拡張線維と交感性血管収縮線維が存在し, これらは顕著な歯肉の血流動態を誘発する事が明らかにされている。そこで本研究は自律神経性血流調節と歯肉の機能特性との関連性を明らかにする事を目的とし, 歯肉の自律神経性血管反応の部位特異性の有無と交感神経と副交感神経の相互作用を検討した。[方法] 実験には, 麻酔下で人工呼吸管理された雄性ラット(10-16週齢)を用いた。歯間乳頭, 遊離歯肉と付着歯肉の血流量は, レーザードップラー血流計と二次元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, 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の血流を増加させたが, この血流増加は歯間乳頭で顕著であった。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%)と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%)。アセチルコリン投与による血流増加は付着歯肉よりも歯間乳頭で大きく, VIP アゴニスト投与による血流増加は歯間乳頭よりも付着歯肉で大きかった。交感神経刺激は各部位に有意な血流減少を誘発し, 舌神経刺激による血流増加を顕著に抑制した。[結論] 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事が明らかになった。歯間乳頭の血管拡張にはコリン作動性線維が重要であり, 付着歯肉の血管拡張にはVIP作動性線維が関与する事が示唆される。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事から, 歯肉の機能障害に密接に関係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。

### Differences in autonomic vasomotor responses and their interactions during trigeminal afferent stimulation in rat gingiva

○Okada Y<sup>1</sup>, Sato T<sup>2</sup>, Islam ST<sup>2</sup>, Saitoh M<sup>1</sup>, Ishii H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Pediatr, Dept Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido, <sup>2</sup>Div Physiol, Dept Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido

Blood flow (BF) in the gingiva, which consists of interdental papilla (IP) and attached (AG) and marginal gingiva (MG), is important in the maintenance of gingival function. Marked BF changes mediated by autonomic nerves may be essential for gingival hemodynamics. However, differences in autonomic vasomotor responses in different parts of the gingiva and their functional significance are unclear. We examined the 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 BF increases in IP, AG, and MG, with the increases being the greatest in IP. The BF increases evoked by LN stimulation were reduced by hexamethonium (90%) and atropine (50%). The BF increase produced by acetylcholine was higher in IP than in AG, whereas that evoked by VIP agonist was greater in AG than in IP. Activation of the cervical sympathetic nerve decreased the gingival BF and inhibited LN stimulation-induced BF increases. Our results suggest that parasympathetic reflex vasodilation is i) more involved in the regulation of BF in IP than in AG or MG, ii) mediated by cholinergic (IP) and VIPergic system (AG), and inhibited by excess sympathetic activity.

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

---

### 3-O14-E3 疼痛行動に対する三叉神経脊髄路核尾側亜核へ下行性投射する島皮質ニューロンの役割

---

○中谷 有香, 小林 真之

日大 歯 薬理

---

口腔顔面領域の侵害情報は、三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Sp5C) の I/II 層に投射する。一方、味覚や内臓感覚に加えて痛み感覚の情報処理を行うことで知られる島皮質 (IC) から Sp5C に投射するニューロンの存在が報告されているが、この機能については不明な点が多い。これまで我々は、チャンネルロドプシンを島皮質ニューロンに発現させ、Sp5C を含む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 → Sp5C ニューロンを選択的に活性化させることで Sp5C の興奮性および抑制性ニューロンから興奮性シナプス後電位を記録したが、その応答の振幅に差を認めなかった。そこで化学遺伝学的手法を用いて侵害刺激に対する逃避反射行動を解析し、IC → Sp5C ニューロンが痛み行動に促進的に作用するのか、あるいは抑制的に作用するのか明らかにした。動物には、先行研究と同様に抑制性ニューロンが緑色蛍光タンパクの Venus で標識された遺伝子改変ラット (VGAT-Venus ラット) を用いた。アデノ随伴ウイルスをベクターとして、赤色蛍光タンパクの mcherry を付与した hM3D (Gq) を島皮質ニューロンに発現させた。3 週間後に Clozapine N-oxide (CNO) を投与するためのカニューレを大槽内に設置した。1 週間治療期間を設け、CNO または vehicle を大槽内へ投与した後 30 分から 30~60 分間隔で機械刺激および熱刺激に対する逃避反射閾値を測定した。左右の whisker pad における von Frey による機械刺激に対しては、CNO 投与後 2.5 時間及び 3 時間の時点で有意な閾値の低下を認めた。さらに、放射熱に対して逃避反射行動の開始までにかかった時間を計測すると、CNO 投与後 3 時間で閾値の低下を認めた。以上の結果から、島皮質の Sp5C への下行性投射ニューロンは、口腔領域の痛み感覚を増強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。

---

### Insular cortical projections to the trigeminal spinal subnucleus caudalis regulate pain-related behaviors in rats

---

○Nakaya Y, Kobayashi M

Dept Pharmacol Nihon Univ Sch Dent

---

The trigeminal spinal subnucleus caudalis (Sp5C) receives orofacial noxious information, and sends the information to the higher brain regions. The insular cortex (IC) plays a major role in processing nociception, and direct descending projections from IC to Sp5C have been reported. However, little information is available in terms of the descending projection profiles. Here, we examined whether IC projections modulate pain behaviors in rats. Behavior tests were performed by using VGAT-Venus transgenic rats that received AAV-hSyn-hM3D (Gq)-mCherry injection into IC. We injected CNO via the cannula implanted in the cisterna magna of the rats. The head withdrawal threshold (HWT) to mechanical stimulation of the whisker pads using von Frey hairs significantly decreased 2.5 and 3 h after CNO injection. The HWT to radiant heat stimulation of the whisker pads also decreased 3 h after CNO injection. These results suggest that excitatory inputs from the IC to the Sp5C decrease the threshold of nociception induced by mechanical and heat stimulation of the peripheral region innervated by the trigeminal nerve.

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

---

### 3-O14-E4 嗜好学習試験によるラット口腔内粒子性認知の解析

○中富 千尋<sup>1</sup>, 堀江 成和<sup>1,2</sup>, 徐 嘉鍵<sup>1</sup>, 乾 賢<sup>3</sup>, 小野堅太郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九歯大 生理, <sup>2</sup>九歯大 顎口腔機能矯正, <sup>3</sup>北大 院歯 口腔生理

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為されていない。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。本研究の目的は、動物実験による口腔内粒子性認知評価法の確立である。粒子性物質として、結晶セルロースを用い、実験動物には雄性 Wistar ラットを用いた。粒子性認知の確認には、グルコースとフルクトースを用いた嗜好学習試験法を応用した。ラットに8%グルコースおよびフルクトース溶液を交互に繰り返し呈示するとグルコース溶液に対する嗜好学習が成立する。同時に、グルコースに添加したフレーバーに対する嗜好学習も成立することが知られている。そこで我々は、8%グルコース溶液に直径 20 μm のセルロース粒子を濃度 1.6% (w/w) で加え、同様の嗜好学習試験を行った。グルコース粒子溶液とフルクトース溶液の二瓶選択法を行うと、始めは同程度の嗜好性を示したが、トレーニング後にはグルコース粒子溶液に対して優位に嗜好性を示した。同じラットに対して粒子溶液と水の二瓶選択法を行ったところ、粒子溶液に対して優位に嗜好性を示した。この結果は、ラットが粒子性に対して嗜好学習を獲得したことを示唆している。本研究の成果により、動物実験を用いて粒子性認知を客観的に評価することが可能となった。本研究で用いた解析法により、ラットの粒子性認知閾値を決定することが可能となり、食感認知研究の発展に寄与すると考えられる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

#### Analysis of oral particle discrimination in rat using preference test

○Nakatomi C<sup>1</sup>, Horie S<sup>1,2</sup>, Hsu C<sup>1</sup>, Inui T<sup>3</sup>, Ono K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Physiol, Kyushu Dent Univ, <sup>2</sup>Div Orofac Funct Orthodont, Kyushu Dent Univ, <sup>3</sup>Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Palatability is generated by a variety of factors such as taste, flavor, and texture, however little study has been carried out on the texture of food. The purpose of this study is to establish a method for evaluating oral particle perception using animal experiments. Microcrystalline cellulose was used as the test substance. Male Wistar rats were used in the experiments. The preference learning test method using glucose and fructose was applied to confirm particle discrimination. After repeated and alternating presentations of 8% glucose and fructose solutions, rats acquire preference learning for glucose solutions. Simultaneously, the rats also acquire preference learning for the flavors added to the glucose solution. We performed the preference test by adding cellulose particles of 20 μm diameter at a concentration of 1.6% (w/w) to an 8% glucose solution. The rats initially showed equal preference for the particle-added glucose and fructose solutions, but after training, they showed preference for the particle-added glucose solution. In the two-bottle preference test for particle solution and water, the rats showed a preference for the particle solution. This result suggests that rats have acquired preference learning for particles. The present study indicates that rats discriminate particles in food.

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



---

### 3-O15-E1 bFGF は静止期の血管平滑筋細胞を特異的に刺激し増殖と脱分化を誘導する

---

○田村-辻 潔美, 田村 正人

北大 院歯 口腔分子生化

---

血管は全身の恒常性維持に必須な組織であり、血管内皮細胞(EC)と血管平滑筋細胞(SMC)によって構成されている。通常これらの細胞は寿命が長く安定した静止状態にあるが、高血圧等の刺激により活性化し、最終的に脂質の蓄積による内腔狭窄が起こり動脈硬化となる。動脈硬化は、ほぼ全ての人で加齢依存的に生じ、創傷治癒障害等の様々な病態に関与しており、現代社会において解決すべき重要な疾患である。動脈硬化の発症には、血管細胞の静止状態から増殖状態へのシフトが関与しているが、その誘因分子は不明である。我々は、無血清コンフルエント培養を用いてマウス株化 SMC と EC の静止状態を誘導し、成長因子とサイトカインをスクリーニングすることで、静止状態を解除するトリガーの同定を試みた。スクリーニングには血管細胞の機能調節に関与することが報告されている 14 種の因子を用いた。しかし、ほとんどの因子はどちらの細胞にも影響を示さず、bFGF (塩基性線維芽細胞増殖因子) のみが、緊密な SMC 単層の静止状態を解除し、形態変化と細胞増殖を誘導した。また静止状態の解除に伴い、分化マーカーである TAGLN の発現が減少したことから、bFGF が SMC の脱分化を誘導したと考えられる。bFGF による静止状態の解除は、マウス株化 SMC と同様にヒト初代 SMC でも見られ、bFGF の SMC 系統への特異的な作用が示された。TGFβ1 は SMC 分化の促進因子として知られており、本研究においても TAGLN 発現を増加した。しかし TGFβ1 は、bFGF による静止状態の解除を阻止できなかったことから、静止状態の解除には分化調節とは独立したメカニズムが存在する可能性が考えられる。SMC の異常増殖は、動脈硬化初期の重要な組織学的事実であり、本研究の知見は、bFGF が静止期の SMC を特異的に刺激し、静止状態を解除するトリガーの役割を果たすことを示した

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### bFGF uniquely disrupted quiescence of vascular smooth muscle cells, leading to proliferation and dedifferentiation

---

○Tsuji-Tamura K, Tamura M

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

---

Vascular blood vessels, which consist of endothelial cells (ECs) and smooth muscle cells (SMCs), normally remain stable. Nevertheless, when vascular cells are exposed to chronic cardiovascular stress, they leave the quiescent state and enter an activated state. Eventually, the blood vessels narrow and harden, resulting in atherosclerosis. Therefore, the cell transition is key to initiate atherosclerosis, however, the triggers are still unknown. We investigated the factors that break the quiescent state by screening growth factors and cytokines using a mouse vascular smooth muscle cell (SMC) line and an endothelial cell (EC) line in serum-free confluent culture, which leads to quiescence. Although all tested factors are known to regulate vascular function, only basic fibroblast growth factor (bFGF) was identified as a potent trigger of quiescence breakage in SMCs, but not ECs. bFGF disrupted tight SMC-monolayers, and caused cellular morphological changes, proliferation and dedifferentiation indicated as reduced expression of the SMC marker TAGLN. bFGF broke the quiescence of human primary SMCs but not of human primary ECs, which suggests the unique effect of bFGF on quiescent SMCs. Aberrant proliferation of SMCs is a crucial event in atherosclerosis. Our findings offer a novel insight into bFGF as a trigger of SMC dysfunction.

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

---

---

### 3-O15-E2 *GBA* 遺伝子構造の再定義と細胞特異的発現制御機構の解析

---

○三好 圭子<sup>1</sup>, 堀口 大吾<sup>1</sup>, 谷村 綾子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>徳大 院医歯薬 口腔生命, <sup>2</sup>熊本大 環境共生 食健康環境

---

**【目的】** *GBA* 遺伝子はリソソームの加水分解酵素である  $\beta$ -グルコセレブロシダーゼ (GCCase) をコードし, その酵素活性の低下は小児の希少難病の一つであるゴーシェ病 (GD) を引き起こす. *GBA* 遺伝子及び GCCase 活性の組織特異性は以前から報告されていたが, その発現制御機構は未だ不明な点が多い. そこで細胞特異的遺伝子発現制御機構を解明するために, *GBA* 転写産物の 5' 末端を再解析し, 転写・翻訳調節機構を探索した. **【材料・方法】** ヒト皮膚線維芽細胞株から全 RNA を抽出し, RLM-RACE により *GBA* 遺伝子の転写開始点を決定した. 線維芽細胞株, HL60 細胞, 及びその分化誘導細胞での *GBA* バリエントの発現プロファイルは qPCR 法にて解析した. IRES 活性は, バイシストロニックレポーターシステムを構築し, 測定した. **【結果・考察】** RLM-RACE の結果, 新しいエクソンおよびスプライシングバリエントを同定し, *GBA* 遺伝子構造の再定義を提案した. 興味深いことに, 2つの *GBA* プロモーター由来の *GBA* バリエントの発現プロファイルが, 線維芽細胞および HL60 由来マクロファージにおいて細胞特異的であることを見出した. また HL60 由来好中球では, マクロファージに比べ *GBA* 遺伝子の発現誘導はほとんど認められなかった. さらに, プロモーター 1 由来の *GBA* バリエントが IRES 活性を有することを発見した. これらの結果は GD 発症機序を解明する上で新たな視点を提案したと考える. **【共同研究者】** 萩田浩子 (徳大・院医歯薬・口腔生命), 野間隆文 (広島女学院大・人間生活・管理栄養) **【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

### Redefining *GBA* gene structure and cell-type specific gene regulation

---

○Miyoshi K<sup>1</sup>, Horiguchi T<sup>1</sup>, Tanimura A<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Biosci, Tokushima Univ Grad Sch of Biomed Sci, <sup>2</sup>Div Food & Health Environ Sci, Dept Environ & Symbiotic Sci, Fac Environ & Symbiotic Sci, Pref Univ of Kumamoto

---

**【Purpose】** The *GBA* gene encodes beta-glucocerebrosidase (GCCase), a hydrolase in lysosome, and the defects of GCCase activity causes Gaucher disease (GD), one of the rare diseases in children. Although the cell-type specificity of the *GBA* gene expression has been reported, the molecular mechanism of their regulations remains unclear. To elucidate the molecular mechanisms of cell-type specific *GBA* gene expression, we screened 5'-end of *GBA* transcripts and analyzed the transcriptional and translational regulation. **【Materials & Methods】** Total mRNA was extracted from human skin fibroblast cell lines, and the transcription start sites of *GBA* gene was determined by RLM-RACE. The expression profile of *GBA* variants were analyzed by qPCR in fibroblasts, HL60 cells, and their derivatives. IRES activity was measured by a bicistronic reporter system. **【Results & Discussions】** We proposed redefining *GBA* gene structure including new exons and variants. Interestingly, the specific usage of the two *GBA* promoters were identified in fibroblasts and HL60-derived macrophages. Furthermore, we observed IRES activities in first promoter driven *GBA* transcripts. These findings shed lights on the GD research field. **【Collaborators】** Hagita H. (Dept. Oral Biosci., Tokushima Univ. Grad. Sch. of Biomed. Sci.), Noma T. (Dept. Nutr. & Health, Hiroshima Jogakuin Univ.)

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

---

---

### 3-O15-E3 オプトジェネティクス法を用いた島皮質 PV 細胞の活性化による疼痛制御効果

---

○小林 理美<sup>1,2</sup>, 藤田 智史<sup>2</sup>, 小林 真之<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 薬理, <sup>2</sup>日大 歯 生物

---

島皮質は、口腔顔面領域の味覚、痛覚をはじめとする複数の感覚情報を処理する高次脳領域である。三叉神経が傷害されると、島皮質局所神経回路に可塑的变化が生じ、興奮性細胞（錐体細胞）が過剰に興奮して異常疼痛を惹起することがある。Parvalbumin 陽性細胞（PV 細胞）は高頻度発火型の抑制性細胞であり、錐体細胞との結合率が高く、強力に錐体細胞の活動を抑制していることが知られている。そこで本研究では、オプトジェネティクス法を用いて、PV 細胞を特異的に活性化させることで錐体細胞の活動を制御した場合、疼痛行動がどのように変化するか検討した。実験には、Parvalbumin-Cre 遺伝子改変ラットに、Channel rhodopsin-2 (ChR2) と赤色蛍光タンパクを共発現させるアデノ随伴ウイルス (AAV5-EF1a-Flex-hChR2(H134R)-mCherry; AAV) を感染させた動物 (PV-Cre ラット) を使用した。まず、PV-Cre ラットの島皮質急性脳スライス標本作製し、ホールセル・パッチクランプ法にて記録を行ったところ、青色光刺激により PV 細胞では活動電位が記録され、錐体細胞からは抑制性シナプス後電流 (IPSC) が記録された。これにより、PV 細胞に特異的に ChR2 が発現し、青色光照射によって錐体細胞を強力に抑制できることが確認できた。次に、PV-Cre ラットの島皮質に AAV を注入すると同時に光ファイバーを留置し、頭部に固定装置を装着した行動実験モデルラットを作製し、青色光刺激を行った結果、無刺激時 (コントロール) と比較して、熱刺激時には逃避行動が増加し、青色光刺激と共に熱刺激を加えると、逃避行動が有意に減少した。以上の結果から、島皮質の出力細胞を抑制すると、顔面に対する侵害刺激で生じる痛み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。

---

### Regulation of pain by activation PV cells of the insular cortex using optogenetics

---

○Kobayashi S<sup>1,2</sup>, Fujita S<sup>2</sup>, Kobayashi M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Biol, Nihon Univ Sch Dent

---

The insular cortex (IC) processes sensory information of the orofacial area. The trigeminal nerve damage causes a plastic change in the neuronal circuit of IC, which may induce abnormal pain. Parvalbumin-immunopositive neurons (PVNs) project to excitatory neurons (pyramidal cells; PNs) and strongly suppress pyramidal cell activities. In this study, we investigated how pain-related behaviors are altered in response to PVNs activation by optogenetics. Using an adeno-associated virus (AAV5-EF1a-Flex-hChR2 (H134R)-mCherry; AAV) and LE-Tg (Pvalb-cre) 2Koba (+/m) PV rats, we selectively activated PVNs in IC slice preparation. We found that blue light application certainly induced action potentials in PVNs, which resulted in IPSC induction in PNs. Next, to examine the effect of PVNs activation on pain-related behaviors in vivo, we injected AAV and, simultaneously, implanted optical fibers into IC, and fixed the head holding device. An exposure to nociceptive heat stimulation increased the amount of pain-related behaviors, which were significantly decreased by blue light application to IC. These results suggest that inhibition of PN activities in IC suppress nociception in the orofacial area.

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

---

---

### 3-O15-E4 短期間ロテノン鼻腔内投与マウスにおける口腔内冷感受性の低下

---

○佐藤 元, 安達 一典

明海大 歯 薬理

[目的] パーキンソン病 (PD) 患者では運動障害発症前から痛覚過敏や温度感覚の低下を認める。一方、黒質ドパミン細胞を選択的に破壊した PD モデルラットにおいて、口唇部への機械刺激に対する体性感覚が鋭敏化するとの報告があるが、温度感覚の変化の有無は不明である。そこで本研究では、短期間ロテノン鼻腔内投与マウスを用いて、口腔内の冷感受性を評価することを目的とする。[方法] ロテノンをジメチルスルホキシドに溶解し (0.05 M)、さらにポリエチレングリコールに 10 倍希釈したロテノン溶液を、吸入麻酔下 (イソフルラン: 2%) の C57BL/6J マウス (雄性, 20-25 週齢) 右側鼻腔内に 1 日 1 回 (0.35 mg/kg, 約 5  $\mu$ l) 1 週間連続投与しロテノン鼻腔内投与マウスを作成した。1 瓶リッキング装置を用いて、22.5 時間絶水したマウスに、1 日 1 種類 1 濃度の試験溶液 (0.3 mM キニーネ或いは 0, 0.3, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.3 mM メントール) を 30 秒間隔で 10 秒間 20 回提示し、ボトルの舐め回数 (リック数) および溶液ボトル提示から最初のボトルリックまでの時間 (潜時) を計測した。[結果と考察] ロテノン投与前では、2.3 mM メントール溶液の総リック数が、0-2 mM メントール溶液に比べて有意に減少したが、投与後、その減少が消失した。また、ロテノン投与前では、2.3 mM メントール溶液提示時の潜時が、0-1.5 mM メントール溶液に比べて有意に延長したが、投与後、その延長が消失した。さらに、ロテノン投与後のキニーネ溶液の総リック数は、ロテノン投与前に比べて有意に増加した。以上の結果から、ロテノン 1 週間鼻腔内投与マウスでは、味覚や嗅覚障害が生じるだけでなく、口腔内における冷感受性の低下も同時に生じ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。

---

### Reduced intraoral cool/cold sensitivity in short-term intranasal rotenone administered-mice

---

○Sato H, Adachi K

Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent

Parkinson's disease (PD) causes prodromal non-motor symptoms such as somatosensory impairments, mainly loss of thermal sensation coupled with mechanical hypersensitivity. The unilateral dopamine depletion in the nigrostriatal pathway in rats induce the hypersensitivity to mechanical stimulation of the orofacial region, but it remains unclear whether PD rodent model exhibit the loss of oral/intraoral thermal sensation. We examined the intraoral cool/cold sensitivity in 1-week intranasal rotenone administered-mice, the presumed animal model in the early-stage of PD. Using brief-access tests, the avoidance behavior for intraoral menthol (0-2.3 mM) or quinine (0.3 mM) solution was assessed in 22.5h water-deprived mice at before and 1-week after intranasal administration of rotenone. The total number of licks and the latency to first lick were simultaneously recorded during 20 trials for 30s in a test. These averaged number and latency, before, but not after rotenone administration, was significantly decreased and increased, respectively, for 2.3 mM menthol compared to other menthol solutions. The number of licks at 0.3 mM quinine was significantly decreased compared to water before rotenone administration, but not after. These results suggest that 1-week intranasal rotenone administered-mice show the reduction of the intraoral cool/cold sensitivity as well as taste and olfactory impairments.

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

---



---

## 1-PM1 相同モデルによる上顎第一小臼歯の3次元形態の性的二型

---

○宮崎 樹梨, 近藤信太郎, 根岸 慎一

日大松戸歯 矯正

【目的】 歯の形態分析はサイズを中心に研究されてきたが, 形を計量的に分析した研究は少ない. そこで本研究は, 上顎第一小臼歯歯冠の三次元的形態を相同モデルによる分析と伝統的な距離計測による結果と比較することにより, 上顎第一小臼歯形態の性的二型を分析することを目的とした. 【資料】 千葉県松戸市立古ヶ崎小・中学校において採得した小学校1年生から中学校3年生の9年間の同一個体経年資料のうち, 上顎第一小臼歯が萌出している20名(男児11名, 女児9名)の歯列模型を材料とした. 除外基準は, 歯の形態異常や歯の先天欠損がないものとした. 【方法】 歯列模型を3Dスキャナーでデジタル化した. STLデータにおいて解剖学的に相同なランドマークを設定して, 相同モデル化を経て主成分分析による形態分析を行った. 相同モデルと並行して, 歯冠近遠心幅径, 頬舌径, 咬頭頂間距離および咬頭傾斜角を計測した. 【結果と考察】 作成した相同モデルから, 上顎第一小臼歯の形態のなかで性差を特徴づける形態変化の大きい主成分が算出された. その結果, 女性では咬頭頂間距離が短く, 男性では頬側咬頭が大きいと考えられ, 頬側咬頭が大きい場合は咬頭頂間距離も長くなることが示唆された. また, 歯冠形態計測の結果から, 男児の咬頭傾斜角が女児に比べて有意に大きく, 咬頭頂間距離と頬舌径においても同様の結果となった. 【結論】 相同モデルを用いることで, 三次元的情報を定量化し, 第一小臼歯における性的二型を視覚的に示すことができた.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

---

### Sexual dimorphism of the three-dimensional structures in the maxillary first premolar using by a homologous model

---

○Miyazaki J, Kondo S, Negishi S

Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, Dept Orthodont

Purpose : The sexual dimorphism of the 3D structures in the maxillary first premolar was analyzed by comparing the homologous model analysis that is one of a novel method of shape analysis , and traditional linear measurements. Materials&Methods : Dental models of 20 patients with fully erupted maxillary first premolars retained in our University were used. They were digitized by a 3D scanner, and morphological analysis was performed by principal component analysis after homologous modeling. The mesiodistal and buccolingual diameters, inter-cuspal distances, and cusp inclination angles were measured. Results&Conclusion : The principal components with characterize sex differences were calculated by the homologous model; inter-cuspal distance and cusp inclination angle were larger in males than in females. These factors were accorded with the linear measurement results. By using a homologous model, we were able to quantify the 3D information and visually demonstrate sexual dimorphism in the maxillary first premolars.

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

---

---

## 1-PM2 イモリ下顎の組織構造の解析

---

○坪崎 健斗, 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】発生・再生の分野で両生類イモリは研究対象とされてきたが、イモリ顎の組織構造の詳細については不明な点がいまだ残されている。本研究では健常な成体イモリでの下顎の組織構造について比較解剖学的に検討した。【材料と方法】在来種である成体アカハライモリ (*Cynops pyrrhogaster*) を全身麻酔下で安楽死させ、上・下顎を一塊として摘出し固定した。X線マイクロトモグラフィー ( $\mu$ CT)、ならびに組織標本を用いて、下顎の組織構造を観察した。【結果と考察】 $\mu$ CTによる解析から、一体化した下顎骨と歯槽骨が下顎の輪郭を既定しており、後方側方部に顎関節が確認できた。メッケル軟骨は、ほ乳類では発生期に一時的に現れる組織であるが、イモリでは成体になっても消失することなく下顎骨に並走していた。下顎中央から後方にかけては多くの軟骨と舌骨が配置されていた。顎堤には同形歯性を呈する多数の歯牙が認められた。組織標本の観察から、セメント質は観察できなかったが、エナメル質・象牙質・歯髄に相当する組織は確認できた。歯周組織では歯根膜が欠如しており歯足骨を介して歯槽骨と結合していた。萌出歯の近傍では歯堤と発生途上の歯胚が多数観察され、多生歯性を示す所見が得られた。口腔の中央部には比較的平坦な舌が大きな領域を占めており、発達した骨格筋のほかに漿液腺房を主体とする唾液腺が数多く観察された。このほか、皮膚には多数の粘液等の分泌腺がみられ、上皮下の結合組織中には血管・リンパ管と末梢神経軸索の走行が観察された。【結論】以上の所見から、メッケル軟骨の存在や多生歯性を示す歯列などの違いが認められたが、基本的にはほ乳類の下顎組織構造と類似していることがわかった。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 再生生理学研究室 千葉親文、慶応義塾大学医学部 形成外科学教室 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。

---

## Investigation of anatomical and histological structures of lower jaws in adult newts

---

○Tsubosaki K, Taya Y, Kawamoto S, Hani T, Kudo T, Sato K, Soeno Y

Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

The morphological details of mandibular structures in newts remain unclear. In this study, we carried out to analyze the mandibular structures comparative-anatomically in normal adult newts (*Cynops pyrrhogaster*). The adult newts were decapitated under the anesthesia and were fixed. Samples were analyzed for the mandibular structures according to microCT and histological approaches. The integrated mandibular and alveolar bones defined the outline of the lower jaw. The temporomandibular joints in the latero-posterior regions were presented. Meckel's cartilage was retained even after reaching the adult stage. Several hyoid bones were present in the centro-posterior regions in the mandible, and various cartilages were positioned around the hyoid bones. Numerous teeth, that were aligned along the alveolar ridge, were isomorphic in shape and polyphyodonty. The teeth lacked a periodontal ligament and connected to the alveolar bone via the odontoid pedicle. There were numerous dental lamina and tooth germs close to erupted teeth. The tongue largely occupied the central part of the oral cavity and included well-developed skeletal muscles and lots of salivary glands. These findings suggest that there are some differences, e. g. the presence of Meckel's cartilage and polyphyodonty in teeth, as compared to mammals. Supported by JSPS KAKENHI Grant number 18H04061.

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

---

---

## 1-PM3 骨芽細胞におけるオステオカルシンと BMP2 の開口分泌動態：生物発光イメージング法による可視化

---

○杉本 穂波<sup>1,2</sup>, 福田 信治<sup>2</sup>, 佐藤 琢麻<sup>1</sup>, 宮澤 健<sup>1</sup>, 鈴木 崇弘<sup>2</sup>, 後藤 滋巳<sup>1</sup>

<sup>1</sup>愛院大 歯 矯正, <sup>2</sup>愛院大 歯 生化

---

骨芽細胞から分泌されるオステオカルシンと BMP2 は骨形成において重要な役割を果たすことが知られている。一方、これら骨形成関連タンパク質の開口分泌動態はほとんど不明である。開口分泌によるタンパク質分泌動態を可視化する手法として、我々は「分泌タンパク質のビデオレート生物発光イメージング法」を開発した。本手法は、解析対象のタンパク質を発光酵素ガウシアルシフェラーゼ (GLase) との融合タンパク質として発現させ、生細胞から開口分泌された GLase 融合タンパク質と培養液中の発光基質 (セレンテラジン) との酵素反応によって生じる微弱発光を生物発光顕微鏡システムで可視化するものである。今回、マウス骨芽細胞株 MC3T3-E1 を用いて、オステオカルシンと BMP2 の開口分泌について解析を行った。両分子について、GLase との融合タンパク質を発現するプラスミドを構築し、MC3T3-E1 に一過性導入した。16 時間後、発光顕微鏡によって両分子の分泌動態を示すビデオ画像を取得した。開口分泌を示す発光スポットの輝度変化について、分泌された瞬間から拡散を経て消失に至る過程を時空間的に解析した。オステオカルシンは細胞表面から分泌された直後に急速に拡散し、数秒以内に消失した。これに対して BMP2 は拡散性が低く、分泌の発光スポットが消失するまでの持続時間が 30 秒以上と長いことが明らかとなった。オステオカルシンは血流に乗って全身性に作用する一方、BMP2 は細胞外マトリックスとの相互作用によって骨組織内で局所的に作用することが知られている。今回得られた拡散性の違いは、オステオカルシンと BMP2 の作用特性を反映することが示唆された。本研究成果は、発光イメージング技術によって拡散性という骨形成関連タンパク質の特性の違いを可視化した初めての報告であり、本手法は分泌タンパク質の解析手段として極めて有用である。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Exocytotic dynamics of osteocalcin and BMP2 in osteoblastic cells visualized by bioluminescence imaging

---

○Sugimoto H<sup>1,2</sup>, Fukuda S<sup>2</sup>, Sato T<sup>1</sup>, Miyazawa K<sup>1</sup>, Suzuki T<sup>2</sup>, Goto S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Orthodont, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Biochem, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent

---

Osteogenesis-related proteins, osteocalcin and BMP2, secreted by osteoblasts are involved in bone formation. However, it remains elusive how these proteins are secreted from osteoblasts. To visualize secreted proteins during exocytosis, we have developed a method of video-rate bioluminescence imaging. The secretory protein to be analyzed is expressed as a fusion protein with Gaussia Luciferase (GLase), which produces luminescence with coelenterazine (luciferin). A bioluminescence microscopy detects the luminescence signals of the GLase-fused protein secreted from cells into culture medium containing coelenterazine. Here, we expressed osteocalcin or BMP2 as a fusion protein with GLase in a mouse osteoblast cell line, MC3T3-E1, and performed bioluminescent imaging. Spatiotemporal analysis revealed that osteocalcin signals diffused rapidly after secretion, then disappeared within seconds. In contrast, the diffusion of BMP2 signals was slow compared to osteocalcin, lasting longer than 30 seconds. Osteocalcin is known to act systemically in the bloodstream, whereas BMP2 acts locally. Our results suggest that the difference in diffusion observed here reflects the original characteristics of these molecules. This is the first report to visualize the exocytosis of osteogenesis-related proteins by bioluminescence microscope, and our technique is valuable for evaluating the property of secreted proteins.

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

---

---

## 1-PM4 破骨細胞による骨吸収に及ぼすミダゾラムの影響

---

○針ヶ谷紘子<sup>1</sup>, 唐木田丈夫<sup>2</sup>, 大熊理紗子<sup>2</sup>, 山本 竜司<sup>2</sup>, 河原 博<sup>1</sup>, 山越 康雄<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>鶴大 歯 麻酔, <sup>2</sup>鶴大 歯 生化

---

ミダゾラム (MDZ) は静脈内鎮静法薬として広く用いられているベンゾジアゼピン系薬である。我々はこれまでに MDZ が骨形成を限定的に促進することを確認したが、骨吸収に対しての効果については不明である。【目的】本研究では、破骨細胞を用いて骨吸収に及ぼす MDZ の影響を調べることを目的とした。【材料および方法】細胞実験では、破骨細胞前駆細胞であるマウス由来マクロファージ様細胞 (RAW264 細胞) に RANKL と MDZ を添加させ、培養 3 日後に酒石酸耐性酸ホスファターゼ (TRAP) 活性の測定を行った。また、リン酸カルシウムをコーティングした培養プレートで 4 日間培養し、骨吸収能を検討した。動物実験として ICR マウスの頭頂部にリポ多糖 (LPS) と MDZ を投与し、LPS により誘発される炎症性骨破壊に対する MDZ の影響を評価した。PBS のみを投与する群 (対照群)、LPS のみを投与する群 (LPS 群)、及び LPS と MDZ を併用する群 (LPS + MDZ 群) に分け、2 日毎に投与を行い合計 4 回の投与を行った。投与開始 9 日目に頭蓋骨を摘出し、 $\mu$ CT で連続的に撮影を行い、三次元構築した画像から骨吸収の割合および頭蓋骨の体積を算出した。また、パラフィン切片を作製し、TRAP 染色にて破骨細胞を評価した。【結果】RAW264 細胞を用いた培養実験に関しては、MDZ は濃度依存的に破骨細胞分化と骨吸収能を抑制した。動物実験では、LPS 群に比べて LPS + MDZ 群で骨吸収の割合が減少傾向を示した。さらに頭蓋骨の体積を比較した場合においても、LPS + MDZ 群で、若干ではあるが LPS 群に比べて増加傾向を示した。また、組織像では LPS 群に比べ LPS + MDZ 併用群で破骨細胞の割合が減少傾向を示した。【考察】本研究の結果から、MDZ は破骨細胞分化と骨吸収能を抑制することが明らかとなり、骨量の増加に促進的に働くことが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Effect of midazolam on bone resorption by osteoclasts

---

○Harigaya H<sup>1</sup>, Karakida T<sup>2</sup>, Ookuma R<sup>2</sup>, Yamamoto R<sup>2</sup>, Kawahara H<sup>1</sup>, Yamakoshi Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

---

Midazolam (MDZ) is an anxiolytic of the benzodiazepine family that is common used as an intravenous sedation. Our **objective:** is to investigate the effect of MDZ on osteoclasts in bone resorption. **Methods:** RANKL and MDZ were added to mouse-derived macrophage-like cells (RAW264 cells), and the activity of tartaric acid resistant acid phosphatase (TRAP) was measured on 3rd day of culture. Further, it was cultured for 4 days in a culture plate coated with calcium phosphate, and bone resorption ability was examined. ICR mice were used as animal experiments. Lipopolysaccharides (LPS) and MDZ were administered to the parietal of mice to assess the effect of MDZ on inflammatory bone destruction induced by LPS. **Results:** In culture experiments using RAW264 cells, MDZ suppressed osteoclastic differentiation and bone resorption capacity in a concentration-dependently. From the 3D image by  $\mu$ CT, the rate of bone resorption in the MDZ was prone to decrease compared to the LPS only. A comparison of volume in the skull showed a slight increasing tendency in the MDZ compared to the LPS. **Discussion:** MDZ has been shown to inhibit osteoclastic differentiation and bone resorption, suggesting that it indicates a facilitatory effect on increasing bone mass.

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

---



## 1-PM5 ヒト腸骨から初代骨細胞を単離する試み

○西澤 千晶<sup>1</sup>, 宮川 和晃<sup>1</sup>, 高垣 裕子<sup>2</sup>, 田中 晋<sup>1</sup>

<sup>1</sup>阪大 院歯 口外1, <sup>2</sup>神歯大 院歯

骨細胞は骨芽細胞の一部が骨基質に埋没することで最終分化した細胞である。骨芽細胞とは機能が異なり、骨量維持の調節細胞や内分泌細胞としての側面が注目されている。これらはマウスジェネティクスの発展とともに明らかにされてきたが、ヒトとマウスでは骨代謝調節機構が異なる点も多く認められる。そこで、骨疾患における骨細胞の機能異常の発見やヒト iPS 細胞から作成した骨細胞の機能評価を可能にするためのヒト骨組織からの初代骨細胞の単離技術の確立を目指した。細胞の単離には口唇裂・口蓋裂患者における顎裂部自家骨移植術の際に採取された腸骨海綿骨細片の一部を用いた。大阪大学歯学研究科・歯学部附属病院 倫理審査委員会 (R2-E34-2) の承認のもとで患者本人および保護者の同意書への署名を取得し、当院手術室にて組織を採取した。クリーンベンチ内にて骨を微細化し、コラゲナーゼによるコラーゲンの分解を5回行い、その後EGTAによる脱灰をコラゲナーゼ処理と交互に2回繰り返すことで、各細胞上清を細胞分画 (Fraction, Fr. 1-9) として回収した。分画化した細胞集団より total RNA を回収し、リアルタイムPCR法にて骨芽細胞および骨細胞マーカー遺伝子量を測定した。骨細胞マーカーである *SOST*, *DMP1* そして *FGF23* の遺伝子発現は後期の分画 (Fr. 6-9) において前期 (Fr. 3-5) よりも高い発現を示した。また、マウス骨細胞にて高い発現を示すと言われている *RANKL* の遺伝子も Fr. 6-9 において高発現していた。これらの結果から、マウス骨からの骨細胞単離法 (Miyagawa et al., *PLOS ONE*. 2014) と同様にヒトの骨組織からも骨細胞に富む分画 (Osteocytes-rich fraction) を単離することに成功した。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

## Isolation of primary osteocytes from iliac bones in human

○Nishizawa C<sup>1</sup>, Miyagawa K<sup>1</sup>, Mikuni-Takagaki Y<sup>2</sup>, Tanaka S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>1st Dept OMFS, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

Osteocytes are the terminally differentiated cells in the osteoblast lineage. Functions of osteocyte which is different from osteoblast are shown to maintain bone mass and regulate mineral metabolism along with development of mouse genetics. However, it is known that bone metabolism has difference between humans and mice. In this study, we attempted to develop a method for the isolation of primary osteocytes from human bones to enable the discovery of abnormal osteocyte function in disorders and the evaluation of osteocytes derived from human iPS cells. Trabecular bone was collected from an iliac crest upon autologous bone grafting in a patient with cleft lip and palate under approval from the Ethics Committee of Osaka University Dental Hospital. Cells were isolated from minced bone as fractions (Fr. 1-9) by repeated collagenase digestion and decalcification. Gene expressions of osteoblast and osteocyte markers were examined by real-time PCR in each fraction. Compared to early fractions (Fr. 3-5), genes such as *SOST*, *DMP1*, and *FGF23* were highly expressed in Fr. 6-9. *RANKL* gene was also identified at higher levels in Fr. 6-9. These results show that the isolation method by sequential digestion/decalcification enabled us to isolate the osteocyte-rich fractions in human bones as well as in mouse bones.

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

## 1-PM6 酸素分圧に依存した軟骨細胞死におけるモノカルボン酸トランスポーター-1の役割

○田中 元博<sup>1,2</sup>, 宮本 洋一<sup>1</sup>, 笹 清人<sup>1</sup>, 山田 篤<sup>1</sup>, 代田 達夫<sup>2</sup>, 上條竜太郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>昭大 歯 口腔生化, <sup>2</sup>昭大 歯 顎顔面口外

【目的】変形性関節症(OA)の関節軟骨では軟骨基質の減少と軟骨細胞の細胞死が観察される。これらの変化は軟骨表層部から始まる。また、OAの発症にインターロイキン-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )等の炎症性サイトカインが関与することが知られている。我々は、乳酸等の膜輸送単体であるモノカルボン酸トランスポーター(MCT)-1が、IL-1 $\beta$ による軟骨細胞死と活性酸素(ROS)産生酵素である食細胞型NADPH oxidase (NOX-2)の発現誘導に関わることを報告した。関節軟骨の表層と深層では酸素分圧が異なることから、マウス軟骨細胞様ATDC5細胞におけるIL-1 $\beta$ による細胞死とMCT-1およびNOX-2の発現誘導に与える酸素分圧の影響を解析した。【方法】1~20%酸素分圧下にATDC5細胞をIL-1 $\beta$ (1 ng/mL)で刺激し、細胞の生存率を評価するとともに、NOX-2とMCT-1の発現を定量的RT-PCRで解析した。【結果】20%酸素下や関節軟骨表層と同様の6%酸素下では、IL-1 $\beta$ によりMCT-1とNOX-2の発現および細胞死が誘導された。しかし、関節軟骨深層同様の1~2%酸素では、これらが抑制された。IL-1 $\beta$ によるMCT-1発現誘導にNF- $\kappa$ Bの関与が示唆された。HIF-1 $\alpha$ は2%酸素下でのMCT-1の発現抑制には関与せず、むしろ発現を促進する可能性が考えられた。【結論】OAの発症は関節軟骨表層部から始まる。今回、IL-1 $\beta$ による軟骨細胞死の誘導に必要なMCT-1とNOX-2の発現誘導が関節軟骨表層の酸素分圧を必要とすることが明らかとなった。今回の結果は、MCT-1の発現・機能制御が、顎関節を含む変形性関節症の治療に有望なアプローチであることを示唆する。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## The role of monocarboxylate transporter-1 in the oxygen tension-dependent chondrocyte death

○Tanaka M<sup>1,2</sup>, Miyamoto Y<sup>1</sup>, Sasa K<sup>1</sup>, Yamada A<sup>1</sup>, Shiota T<sup>2</sup>, Kamijo R<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Oral Maxillofac Surg, Showa Univ Sch Dent

Objectives: Inflammatory cytokines, including interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ), are involved in the pathogenesis of osteoarthritis (OA). We previously reported that monocarboxylate transporter (MCT)-1, a transmembrane transporter for monocarboxylates, was required for chondrocyte death and expression of NADPH oxidase (NOX)-2. Here, we investigated the effect of oxygen tension on IL-1 $\beta$ -induced cell death and expression of MCT-1 and NOX-2 in mouse chondrocyte-like ATDC5 cells. Methods: ATDC5 cells were treated with IL-1 $\beta$  under 1-20% oxygen for various periods. We assessed cell survivability and the expression of MCT-1 and NOX-2 mRNAs. Results: IL-1 $\beta$  induced the cell death and the expression of MCT-1 and NOX-2 under 6-20% oxygen, but not under 1-2% oxygen. An I- $\kappa$ B kinase inhibitor suppressed the IL-1 $\beta$ -induced expression of MCT-1, indicating the involvement of NF- $\kappa$ B in the transactivation of the MCT-1 gene by IL-1 $\beta$ . The effects of an accelerator and a suppressor of HIF-1 $\alpha$  suggested that HIF-1 $\alpha$  had a positive impact on that process. Conclusion: MCT-1 and NOX-2 expression induced by IL-1 $\beta$  required the oxygen tension equivalent to that of the superficial zone of the articular cartilage. These results suggest that regulation of MCT-1 in articular cartilage would be a promising approach to control joint diseases, including jaw arthritis.

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

---

## 1-PM7 上皮ケラチノサイトにおけるグルコースが及ぼす TGF- $\beta_1$ 誘導性上皮間葉転換への影響

---

○武石 幸容, 長岡 良礼, 八田 光世

福歯大 細胞分子生物 分子機能

---

上皮細胞が間葉細胞様の形態及び機能を獲得する現象を上皮間葉転換(EMT)という。EMTは胚発生、組織損傷の修復、癌の浸潤/転移への関与が報告されているが、その分子機序はいまだ明らかではない。

我々は、ヒト角化細胞株 HaCaT において形質転換増殖因子(TGF)- $\beta_1$ により EMT 誘導される実験系を立ち上げ、グルコースが EMT 誘導に与える影響を検討した。グルコース濃度だけが異なる条件で培養して EMT 誘導を行なったところ、全ての条件において EMT 様の形態変化が生じたが、EMT マーカーの発現に差を見出した。グルコース量がコントロール条件以上において上皮系マーカーの減少および間葉系マーカーの上昇が確認できたが、低グルコース条件では両マーカーの発現変動は起きなかった。さらにグルコースが EMT 誘導を促進すると考えて細胞内代謝を調べたところ、低グルコース条件では細胞内のグルコースと代謝物である乳酸の量が共に有意に低いことがわかった。我々は以前にマイクロアレイの結果からオートファジーマーカー LC-3 のホモログ GABARAPL1 の発現が EMT 誘導によって変化することを見出していたのでグルコース濃度とオートファジーとの関係に着目し、その発現量を定量した。低グルコース条件では基底レベルの GABARAPL1 の発現量が増加しており、全ての条件において TGF- $\beta_1$ 応答性に上昇した。以上の結果から、上皮ケラチノサイトにおいてグルコースの細胞内代謝と関連したオートファジーの活性化の程度が EMT 誘導を制御するのではないかと考えられた。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Effect of glucose on TGF- $\beta_1$ -induced epithelial-mesenchymal transition in epithelial keratinocytes

---

○Takeishi Y, Nagaoka Y, Hatta M

Div Cell Mol Regul, Fukuoka Dent Coll

---

Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) is a unique program in which epithelial cells become more like mesenchymal cells. EMT is involved in several processes, including development, wound healing, fibrosis, and cancer progression, but the molecular mechanism remains to be elucidated.

We analyzed the effect of glucose on transforming growth factor (TGF)- $\beta_1$ -induced EMT in human keratinocyte HaCaT cells. Using fluorescent staining, TGF- $\beta_1$ -treated HaCaT showed the formation of actin stress fiber, regardless of glucose. EMT-related markers were partially suppressed in TGF- $\beta_1$ -treated cells under low-glucose conditions. Furthermore, both intracellular glucose and lactate, a glucose metabolite, were decreased under low-glucose conditions. We focused on the relationship between autophagy and the partial suppression of EMT under low-glucose conditions because we found in a previous study that GABARAPL1, a homolog of autophagy marker LC-3, may be associated with TGF- $\beta_1$ -induced EMT. The expression of GABARAPL1 was regulated in a glucose- and TGF- $\beta_1$ -dependent manner.

Therefore, it is likely that TGF- $\beta_1$ -induced EMT is regulated by glucose-induced autophagy in epithelial keratinocytes.

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

---

---

## 1-PM8 小胞体ストレスはリポ多糖に対する炎症応答を増強する

---

○中南 友里, 村上 智彦, 高畑 佳史, 波多 賢二, 西村 理行  
阪大 院歯 生化

【目的】細胞は、内外からの刺激を受けると、折りたたみ不全のタンパク質が小胞体に蓄積する。小胞体内でのこの現象は、小胞体ストレスと呼ばれている。小胞体ストレスは、肥満、糖尿病、神経変性疾患、骨軟骨疾患、ガン、歯周病などの発症への関与が報告されている。これら疾患では慢性炎症を伴っていることが多く観察されているので、小胞体ストレスと炎症の連関が存在し、これら疾患の発症に関係している可能性が推察される。そこで本研究では、炎症に対する小胞体ストレスの関与を分子レベルで解明することを目指した。

【方法】C57BL/6 マウスの大腿骨から骨髄マクロファージ (BMM) を採取した。炎症反応を惹起するために、リポ多糖 (LPS) を BMM に添加した。また小胞体ストレスを誘発するためには、タンパク質の折りたたみ機能を阻害するツニカマイシン (Tm) を BMM に添加した。炎症と小胞体ストレスの連関を検討するために、LPS, Tm あるいは両者で刺激した BMM から全 RNA を精製し、発現誘導される遺伝子をマイクロアレイ解析にて検討した。

【結果および考察】マイクロアレイ解析により LPS あるいは Tm で誘導される遺伝子発現を網羅的に検索した結果、炎症刺激あるいは小胞体ストレスにより発現が誘導される遺伝子群を各々認めた。興味あることに、これら LPS 刺激で発現誘導された炎症関連因子群の中に、Tm 刺激でさらに発現レベルが増加する遺伝子を多数見出した。これらの遺伝子の発現に対する炎症反応と小胞体ストレスとの関与をさらに検討するために、RT-qPCR 解析を行ったところ、LPS と Tm により遺伝子の発現が相乗的に誘導されることを確認した。以上の実験結果より、少なくとも BMM においては、炎症性疾患の病態に小胞体ストレスが関与している分子群が見出され、炎症と小胞体ストレスが相互連関してい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。

---

## Endoplasmic reticulum stress amplifies inflammatory response triggered by lipopolysaccharide

---

○Nakaminami Y, Murakami T, Takahata Y, Hata K, Nishimura R

Dept Mol Cell Biochem Osaka Univ Grad Sch Dent

Objectives: Endoplasmic reticulum (ER) stress has been reported to be involved in the pathogenesis of obesity, diabetes, neurodegenerative diseases, osteochondral diseases, cancer, and periodontal disease. Because these diseases are associated with chronic inflammation, ER stress might be likely to interact with chronic inflammation. In this study, we attempted to elucidate the involvement of ER stress in inflammatory response.

Methods: Bone marrow macrophages (BMM) were collected from the femora of C57BL/6 mice. Lipopolysaccharide (LPS) was used to induce inflammatory responses. Tunicamycin (Tm), an ER stressor, was used to induce ER stress. To investigate the relationship between inflammation and ER stress in BMM, the gene expression profiles of BMM stimulated with LPS, Tm, or both, were analyzed by microarray.

Results and Discussion: We comprehensively searched for the genes induced by LPS, Tm, or both based on microarray analyses. Among inflammation-related genes induced by LPS, several genes were further upregulated by treatment with both LPS and Tm. To further examine the involvement of ER stress in inflammatory response, we performed RT-qPCR analyses, and found that Tm treatment enhanced LPS-induced expression levels of these genes. These results suggest that ER stress amplifies inflammatory response in BMM.

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

---



---

## 1-PM9 Neutrophil extracellular traps による RANKL 誘導性破骨細胞の分化制御

---

○沼崎 研人<sup>1,2</sup>, 多田 浩之<sup>1</sup>, 松下 健二<sup>3</sup>, 溝口 到<sup>2</sup>, 菅原 俊二<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大 院歯 口腔分子制御, <sup>2</sup>東北大 院歯 顎口腔矯正, <sup>3</sup>長寿セ 口腔疾患

---

【緒言】感染に際して好中球は neutrophil extracellular traps (NETs) を放出し、微生物を捕獲・殺菌する。NETs は好中球の DNA にヒストン、エラスターゼや抗菌ペプチドなどが結合した網状構造物で、細胞外の殺菌を可能にする。他方、過剰な NETs 産生は関節リウマチや歯周病など骨破壊を伴う慢性炎症疾患を増悪させるが、破骨細胞の分化における NETs の役割は明らかにされていない。本研究は、破骨細胞の分化と機能における NETs の影響を検討した。【材料と方法】C57BL/6 (B6) マウス骨髄由来好中球を calcium ionophore で 4 時間処理し NETs を採取した。破骨細胞は、B6 マウス骨髄細胞を 50 ng/mL M-CSF で 3 日間培養し骨髄由来マクロファージ (BMMs) に分化後、50 ng/mL M-CSF および 50 ng/mL RANKL で分化させた。破骨細胞の形成は酒石酸耐性酸フォスファターゼ染色、破骨細胞マーカーの mRNA レベルは RT-qPCR で解析した。骨吸収の活性は、リン酸カルシウムでコーティングしたプレートを用いたピット面積で評価した。【結果】BMMs を RANKL で破骨細胞に分化させる際、NETs で刺激すると分化した破骨細胞数が有意に減少した。また、NETs は NFATc1, cathepsin K, DC-STAMP mRNA 発現を抑制し、破骨細胞の骨吸収活性を減弱させた。しかしながら、NETs 添加による細胞生存率の低下は観察されなかった。【考察】NETs はマクロファージから破骨細胞への分化過程を抑制することが明らかとなった。歯周組織の骨ホメオスタシスにおいて、NETs は過剰な破骨細胞形成を調節する役割を担う可能性が示唆される。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## The functional role of neutrophil extracellular traps in RANKL-induced osteoclastogenesis

---

○Numazaki K<sup>1,2</sup>, Tada H<sup>1</sup>, Matsushita K<sup>3</sup>, Mizoguchi I<sup>2</sup>, Sugawara S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Div Orthod Dentofac Orthop, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Oral Dis Res, NCGG

---

**Purpose** NETs are extracellular web-like structures, which contain double-stranded DNA, histones, elastase, and antimicrobial peptide. The contribution of NETs to osteoclastogenesis is uncertain. This study investigated the effect of NETs on the RANKL-induced osteoclastogenesis. **Materials and Methods** Bone marrow-derived neutrophils from C57BL/6 (B6) mice stimulated with calcium ionophore for 4 h. For generation of osteoclasts, bone marrow cells from B6 mice were cultured in the presence of M-CSF for 3 d, differentiated into bone marrow-derived macrophages (BMMs) and then stimulated with NETs in the presence of M-CSF and RANKL. Osteoclast formation was measured by TRAP staining and mRNA levels of osteoclast markers by RT-qPCR. Bone resorption activity was assessed by the pit area using calcium phosphate-coated plates. **Results** During osteoclastogenesis by RANKL, the number of differentiated osteoclasts was significantly decreased in the cells stimulated with NETs. Furthermore, NETs suppressed the mRNA expression of osteoclast markers. Likewise, bone resorption activity was attenuated upon stimulation with NETs. **Conclusion** NETs inhibited the differentiation process from macrophages to osteoclasts. These data indicate that NETs may play a role in regulating excessive osteoclastogenesis in bone homeostasis of periodontal tissue.

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

---

---

## 1-PM10 HUCPVC の石灰化に及ぼす塩基性線維芽細胞増殖因子の影響についての検討

---

○矢部 正浩<sup>1</sup>, 唐木田丈夫<sup>2</sup>, 山本 竜司<sup>2</sup>, 大熊理紗子<sup>2</sup>, 野々山 駿<sup>1</sup>, 長野 孝俊<sup>1</sup>,  
山越 康雄<sup>2</sup>, 五味 一博<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 歯周, <sup>2</sup>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。特にヒト臍帯血管周囲細胞(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(bFGF)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bFGF, 活性型ビタミンD, LDN-193189(LDN), TGF- $\beta$ を併用し添加することにより硬組織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bFGF, 活性型ビタミンD, LDN, TGF- $\beta$ を併用し添加後、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により硬組織関連遺伝子発現の測定を行った。また、石灰化誘導培地においてbFGF, 活性型ビタミンD, LDN, TGF- $\beta$ を併用することにより、硬組織への分化の影響についての比較検討も行った。【結果と考察】HUCPVCにbFGF, 活性型ビタミンD, LDN, TGF- $\beta$ を添加することでALP活性の上昇とオステオカルシン, オステオポンチン, リン酸トランスポーターPiT1の遺伝子発現上昇が見られ、一方 $\alpha$ 平滑筋アクチンの発現は低下した。特にbFGF, 活性型ビタミンD, LDN, TGF- $\beta$ において最も反応が強く、また、アリザリンレッド染色にて石灰化沈着物が観察された。【結論】本研究では、活性型ビタミンD, LDN, TGF- $\beta$ 及びbFGFの共存下でHUCPVCを培養すると、石灰化誘導能を有する細胞に分化させることのできる可能性を見出した。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Examination of the effect of basic fibroblast growth factor on the calcification of HUCPVC

---

○Yabe M<sup>1</sup>, Karakida T<sup>2</sup>, Yamamoto R<sup>2</sup>, Chiba-okuma R<sup>2</sup>, Nonoyama S<sup>1</sup>, Nagano T<sup>1</sup>,  
Yamakoshi Y<sup>2</sup>, Gomi K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Biochem Mo 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 (bFGF) 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 bFGF possesses the ability to induce the differentiation of HUCPVC into hard tissue-forming cells. Methods: HUCPVC was cultured in the presence or absence of b-FGF, active vitamin D and LDN193189, and alkaline phosphatase (ALP) activity and the mRNA level of hard tissue-related genes were measured, A comparative study was also conducted on the effects of differentiation on hard tissues by using bFGF, active vitamin D, LDN, and TGF-beta in combination under calcification-inducing medium. Results and Discussions: The presence of b-FGF, active vitamin D and LDN193189 enhanced ALP activity in HUCPVC and mRNA level of osteocalcin, osteopontin and phosphate transporter PiT1 but Expression of alpha-smooth muscle actin decreased. Calcified deposits observed by alizarin red staining. Our results suggest that the combination of b-FGF, active vitamin D and LDN193189 to HUCPVC induces, the possibility found to differentiation into cells capable of calcification.

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

---

---

## 1-PM11 骨吸収による TGF- $\beta$ が破骨細胞へ与える影響

---

○大熊理紗子, 唐木田丈夫, 山越 康雄

鶴大 歯 生化

【背景】 正常な骨量を保つためには、破骨細胞によるカップリング機構が作動しなければならない。この機構を調節する因子は、骨吸収によって産生または活性化され、骨形成を促進するような働きをする因子であると考えられている。近年、骨吸収によって放出された骨基質中のトランスフォーミング成長因子ベータ (TGF- $\beta$ ) が骨芽細胞前駆細胞に作用し、骨形成を促進することが報告されているが、破骨細胞自身への影響はまだ明らかにされていない。【目的】我々は骨吸収によって放出された TGF- $\beta$  が破骨細胞自身に与える影響を調べることを目的とした。【材料・方法】 Latent TGF- $\beta$ (LTGF- $\beta$ )を共有結合させたリン酸カルシウムコーティングプレートを用いて、マクロファージ系の RAW264 細胞を可溶性の RANKL とともに培養し、破骨細胞へと分化させ、(1)Pit assay による分化した破骨細胞の骨吸収活性の測定、(2)骨吸収後のプレートに抗 TGF- $\beta$  抗体を用いた蛍光免疫染色による吸収窩内の TGF- $\beta$  の観察、(3)細胞から RNA を抽出し、RT-qPCR による遺伝子発現解析、(4)細胞をパラフィン包埋し、薄切後、各種染色 (HE, Von Kossa, TRAP, IHC, IF) による観察を行った。【結果・考察】 Pit assay では、LTGF- $\beta$  含有のプレートは対照群と比較し、骨吸収の割合に有意差が見られた。蛍光免疫染色では、吸収窩内の TGF- $\beta$  が骨吸収によって減少していることが確認された。RT-qPCR において、TGF- $\beta$  存在下では対照群と比較し、骨吸収関連遺伝子が増加していた。組織学的実験において、TGF- $\beta$  存在下では対照群と比較し、TRAP 活性の上昇が見られ、骨吸収関連タンパクの上昇も観察された。以上の結果より、骨吸収によって放出された TGF- $\beta$  が破骨細胞自身および破骨細胞前駆細胞を活性化させていることが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

### Effect of TGF- $\beta$ on bone resorption on osteoclasts

---

○Chiba-Ohkuma R, Karakida T, Yamakoshi Y

Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

The transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) released by bone resorption is believed to act on osteoblasts, but its effect on osteoclasts itself is not clear. Our objective: is to investigate the effect of TGF- $\beta$  released by bone resorption on osteoclasts themselves. Methods: Using a latent TGF- $\beta$  coated plate, RAW264 cells were cultured with RANKL to differentiate into osteoclasts. Pit assay was performed to measure the bone resorption activity of differentiated osteoclasts. The plate after bone resorption was subjected to immunofluorescence staining with an anti-TGF- $\beta$  antibody. Changes in gene expression were analyzed by RT-qPCR. The cell morphology was observed by various staining (HE, Von Kossa, TRAP, IHC, IF). Results and Discussion: Pit assay revealed that the plate containing LTGF- $\beta$  had significant differences in the rate of bone resorption compared to the control group. Immunofluorescence staining displayed that TGF- $\beta$  in the resorption pit was reduced by bone resorption. In RT-qPCR analysis, bone resorption-related genes expression was increased in the presence of TGF- $\beta$ . Histological analysis showed the increase of TRAP activity and bone resorption-related protein expression in the presence of TGF- $\beta$ . These results suggest that TGF- $\beta$  released by bone resorption activate osteoclasts themselves and preosteoclasts.

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

---

---

## 1-PM12 脱ユビキチン化酵素 OTUB1 の頭頸部扁平上皮癌の進展における役割

---

○Jin Shengjian<sup>1</sup>, 常松 貴明<sup>2</sup>, 堀口 大吾<sup>1</sup>, 石丸 直澄<sup>2</sup>, 工藤 保誠<sup>1</sup>

<sup>1</sup>徳大 院医歯薬 口腔生命科学, <sup>2</sup>徳大 院医歯薬 口腔分子病態

---

### The role of the deubiquitylating enzyme, OTUB1 in head and neck squamous cell carcinoma progression

---

○Jin S<sup>1</sup>, Tsunematsu T<sup>2</sup>, Horiguchi T<sup>1</sup>, Ishimaru N<sup>2</sup>, Kudo Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Biosci, Tokushima Univ Grad Sch of Biomed Sci, <sup>2</sup>Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch of Biomed Sci

---

A post-translational modification of proteins, a process known as ubiquitylation, functions in a wide variety of cellular processes. Like other post-translational modifications, ubiquitylation is reversible: peptidases termed deubiquitylating enzymes (DUBs) can cleave ubiquitin from substrate proteins, edit ubiquitin chains, and process ubiquitin precursors. The balance between ubiquitylation and deubiquitylation of the substrate protein maintains cellular homeostasis. Dysfunction of ubiquitylation and deubiquitylation can lead to various diseases including cancer. In this study, we identified OTUB1 (OTU deubiquitinase, ubiquitin aldehyde binding 1) that is involved in tumor progression of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). First, the candidate genes involved in the poor prognosis of HNSCC patients were screened from RNA-seq data of 519 primary HNSCC cases with the prognosis information, obtained from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. By our screening, we found that four candidate DUBs (OTUB1, USP10, USP14, and STAMBP) were highly expressed in the primary HNSCC and significantly correlated with the poor prognosis. Then, four DUBs were transfected into the HNSCC cell line, HSC2 by using a lentiviral vector. Among DUB-overexpressing HSC2 cells, OTUB1-overexpressing cells showed the highest ability of proliferation and invasion. Moreover, we orthotopically injected DUBs-overexpressing HSC2 cells into the tongue of nude mice. After 4 weeks of orthotopic implantation, OTUB1-overexpressing cells showed aggressive tumors with lymph node and lung metastasis. Taken together, we suggest that OTUB1 may have a role in tumor progression.

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

---



---

## 1-PM13 マクロファージは LepR 陽性細胞を活性化し骨再生を促進する

---

○何 治鋒<sup>1</sup>, 溝口 利英<sup>2</sup>, 平賀 徹<sup>3</sup>, 中道 裕子<sup>1</sup>, 山下 照仁<sup>1</sup>, 小出 雅則<sup>1</sup>,  
宇田川信之<sup>1</sup>, 小林 泰浩<sup>1</sup>

<sup>1</sup>松歯大 総合歯科医学研 生化, <sup>2</sup>東歯大 口腔科学研究七, <sup>3</sup>松歯大 歯 口腔解剖

---

### Macrophages promote bone regeneration through the activation of LepR (+) cells

---

○He Z<sup>1</sup>, Mizoguchi T<sup>2</sup>, Hiraga T<sup>3</sup>, Nakamichi Y<sup>1</sup>, Yamashita T<sup>1</sup>, Koide M<sup>1</sup>, Udagawa N<sup>1</sup>,  
Kobayashi Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inst for Oral Sci, Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup>Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup>Dept Oral Anat, Fac Dent, Matsumoto Dent Univ

---

[Purpose]: Macrophages secrete various cytokines and clean up inflammatory tissues to promote tissue regeneration. They reportedly play an important role in bone regeneration after bone fracture. However, the mechanisms by which macrophages promote bone regeneration has not been fully elucidated. In this study, we investigated role of macrophages promote in bone regeneration. [Materials & Methods]: In our bone regeneration model, the cortical bone of tibiae in LepR-Cre; Rosa26-loxP-stop-loxP-tdTomato (R26-Tomato) mice was punctured using a 21-gauge needle and histological analysis was performed during the healing process. The clodronate liposome (CloL) or Csf1r neutralizing antibody AFS98 were intraperitoneally injected into those mice to deplete macrophage subpopulations. Micro CT analysis was used to investigate the bone volume at injury site on day 7. [Results & Conclusion]: Here we have shown the close association between macrophages and Leptin Receptor (LepR) (+) lineage-stromal cells during the bone regeneration process. The depletion of F4/80 (+) Csf1r (-) macrophages was clearly observed in CloL-treated mice. Micro CT analysis showed that the regenerative bone volume in CloL-treated mice was significantly lower than that in PBSL-treated mice on day 7 after bone injury. Notably, administration of Csf1r neutralizing antibody AFS98 which depleted Csf1r (+) bone marrow cells and osteoclasts did not affect the osteogenesis at bone injured region on day 7. Furthermore, LepR-Cre labeled bone marrow stromal cells were markedly increased in PBSL-treated but not in CloL-treated mice at the injury site for 4 days after bone injury. Ki67 antibody staining demonstrated the lower proliferation rate of LepR (+) cells at the injury site in CloL-treated mice on day 4 compared with the control one. Immunofluorescent study showed that most of osterix (+) cells at the injury site on days 4 and 7 were labeled by LepR-Cre. We further examined whether Wnt signals are involved in osteoblastic differentiation of LepR (+) cells using Axin2-CreERT2; R26-Tomato mice treated with tamoxifen. The percentage of Axin2-tomato (+) osterix (+) cells significantly decreased at the bone injury site of CloL-treated mice compared with those of PBSL-treated mice on days 5 and 7 after bone injury. Together, F4/80 (+) Csf1r (-) macrophage subpopulations promote Wnt signals in LepR (+) cells and then facilitate bone regeneration.

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

---

## 1-PM14 LC3の阻害は破骨細胞の成熟を抑制し、歯周病モデルの骨破壊を抑制する

○日浦 史隆<sup>1</sup>, 川端 由子<sup>2</sup>, 溝上 顕子<sup>3</sup>, 自見英治郎<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔細胞工学, <sup>2</sup>九大 院歯 口腔機能分子, <sup>3</sup>九大 院歯 OBT 研セ

オートファジーは、細胞が自らの一部を分解する非選択的作用であり、老化した細胞小器官や病原体を除去するだけでなく、細胞の恒常性を維持し、分解された細胞成分を再利用することにより、栄養ストレスと飢餓に適応する。微小管関連タンパク質 LC3 は、オートファジーに不可欠なリソソームと融合することにより、余分な細胞質タンパク質を処分する。オートファジーは破骨細胞の分化や機能に関与していることが示されているが、LC3 の骨吸収における役割は不明な点が多い。本研究では、LC3 の脂質化を抑制することでオートファジーを抑制する NSC185058 (NSC) を用いて破骨細胞の骨吸収における LC3 の役割と NSC185058 の歯周病治療薬としての可能性を検討した。マウス骨髄細胞に M-CSF を 2 日間加え、破骨細胞前駆細胞を誘導した後に RANKL を添加する 1 時間前に様々な濃度の NSC185058 で前処理すると NSC の濃度依存的に破骨細胞形成が抑制された。破骨細胞分化過程の前、中、後期にそれぞれ細胞傷害を示さない 5  $\mu$ M の NSC を加えると、中～後期に加えることで破骨細胞の多核化が抑制され、*DC-STAMP*、*CathK* などの成熟破骨細胞のマーカーの発現も低下した。次に骨芽細胞と骨髄細胞の共存培養から得られた成熟破骨細胞を象牙片上に播種し、NSC 存在下、非存在下で 48 時間培養すると NSC 添加群でアクチンリング形成と吸収窩形成が抑制された。さらに 8-10 週齢の野生型雄マウス上顎右側第二大臼歯を絹糸で結紮した歯周炎モデルマウスに NSC を投与し、7 日後に歯槽骨の 3 次元的解析と組織学的解析を行ったところ、NSC 投与群で破骨細胞数の減少による歯槽骨の吸収が抑制された。以上の結果より、LC3 は破骨細胞の成熟過程に重要で、LC3 の阻害は歯周病治療の新たな治療戦略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。

## Inhibition of LC3 suppresses osteoclast maturation and bone destruction in periodontal disease models

○Hiura F<sup>1</sup>, Kawabata Y<sup>2</sup>, Mizokami A<sup>3</sup>, Jimi E<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Sect Aging Sci Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Autophagy is a non-selective action in which cells degrade parts of themselves, reusing degraded cellular components. The microtubule-associated protein LC3 degrades excess cytoplasmic proteins by fusing with lysosomes, which are essential for autophagy. Although autophagy has been shown to be involved in osteoclastic bone resorption, the role of LC3 in bone resorption remains unclear. When M-CSF was added to mouse bone marrow cells to induce osteoclast precursor cells and then pretreated with various concentrations of NSC185058 1 h before RANKL treatment, osteoclastogenesis was suppressed in a dose-dependent manner of NSC. Addition of NSC in the late stages of osteoclast differentiation suppressed multinucleation with reduced the expression of markers for mature osteoclasts such as *DC-STAMP* and *CathK*. NSC also suppressed actin ring formation and pit formation in mature osteoclasts. When 8-week-old male mouse with a periodontitis model in which the right maxillary second molar was ligated with silk thread were injected with or without NSC, an alveolar bone resorption was suppressed due to a decrease in the number of osteoclasts in the NSC-treated group. These results suggest that LC3 is important for the maturation of osteoclasts, and that inhibition of LC3 is a new therapeutic strategy for periodontal disease.

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

## 1-PM15 口腔内細菌の代謝産物である短鎖脂肪酸が RANKL 誘導破骨細胞形成に及ぼす影響

○朝山 雄之, 津田 啓方

日大 歯 口外・口腔外科

抜歯後、血餅形成が起こらず歯槽骨が露出した状態が続くと抜歯窩骨表面の石灰化亢進が認められる事がある。抜歯後の血餅形成不全では、抜歯窩内へ侵入した細菌が食物残渣を代謝し、その代謝産物が歯槽骨表面に作用することが考えられる。我々は口腔内細菌が高濃度に産生する代謝産物である短鎖脂肪酸に着目し、これらが抜歯窩骨表面の石灰化亢進を起こしている可能性を考えた。石灰化亢進は骨吸収抑制および骨形成促進により起こる事から、まずは短鎖脂肪酸が破骨細胞分化に及ぼす影響について調べた。マウス RAW264.7 細胞にマウスリコンビナント RANKL を作用させると破骨細胞形成が誘導される。この系を用いて短鎖脂肪酸が破骨細胞形成に及ぼす影響について調べた。TRAP 活性陽性の多核巨大細胞を破骨細胞形成の指標とした。また、マウス骨髄マクロファージを用いた系においても同様な事を行った。短鎖脂肪酸（酪酸、プロピオン酸、イソ酪酸、イソ吉草酸、酢酸）は濃度依存的に、RANKL 誘導 TRAP 陽性多核巨細胞の形成を抑制した。また、細菌培養上清中に含まれる短鎖脂肪酸濃度を参照して口腔内細菌培養上清を模倣した短鎖脂肪酸混合物を作成し、この分化誘導系に作用させると、*Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* の培養上清模倣短鎖脂肪酸混合物の作用より RANKL 誘導の TRAP 陽性多核巨細胞の形成が抑制され、*Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* の模倣短鎖脂肪酸混合物を作用させた場合では TRAP 陽性細胞は認められるものの多核巨大細胞はほとんど認められなかった。以上の結果より、短鎖脂肪酸が RANKL 誘導破骨細胞分化および多核巨細胞形成を抑制している事が示唆された。抜歯窩表面の石灰化亢進は抜歯窩への血液供給を妨げることで患部への免疫系細胞の供給を抑制することから、歯槽骨炎へ発展させる因子の一つとして短鎖脂肪酸の可能性が考えられた。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### Effect of short-chain fatty acids, metabolites of oral bacteria, on RANKL-induced osteoclast differentiation

○Asayama T, Tsuda H

Dept Oral Maxillofac Surg, Div Oral Surg, Nihon Univ Sch Dent

After removing blood clots in the tooth socket cavities for a while following a tooth extraction, highly mineralized alveolar hard lines are often observed using radiography. Oral bacteria infecting the socket's surface can ferment dietary fibers in impacted food remnants and produce high concentrations of short-chain fatty acids (SCFAs) as their metabolic by-products. Since increased calcification is thought to occur in increased osteogenesis or decreased bone resorption, we first investigated the effects of SCFAs on RANKL-induced osteoclastogenesis. Treatment of mouse macrophage-like RAW264.7 cells or mouse bone marrow cells with butyrate, propionate, isobutyrate, isovalerate, or acetate in the presence of RANKL inhibited TRAP-positive multinuclear giant cell formation in a dose-dependent manner. In addition, SCFA mixtures mimicking culture supernatants of each oral bacteria were constituted and applied to the system of RANKL-induced osteoclast formation. Treatment with SCFA mixtures mimicking *Porphyromonas gingivalis*, and *Fusobacterium nucleatum* inhibited RANKL-induced TRAP-positive multinuclear giant cell formation, while that with SCFA mixtures mimicking *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescence*, and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* induced TRAP-positive cells; however giant multinuclear cells were not observed. These results suggested that SCFAs produced by oral bacteria suppressed RANKL-induced osteoclast formation. This effect might contribute to the highly mineralized surfaces of the tooth socket.

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

---

## 1-PM16 ヒト歯髄幹細胞における Er:YAG レーザーおよび半導体レーザー照射による影響

---

○吉田 凌<sup>1</sup>, 山川駿次郎<sup>1</sup>, 小林 一行<sup>2</sup>, 山本 竜司<sup>3</sup>, 大熊理紗子<sup>3</sup>, 唐木田丈夫<sup>3</sup>,  
山崎 泰志<sup>1</sup>, 山越 康雄<sup>3</sup>, 細矢 哲康<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 歯内, <sup>2</sup>鶴大 短 歯衛, <sup>3</sup>鶴大 歯 生化

---

歯科領域では種々のレーザーが使用されているが、作用機序や効果については不明な点が多い。演者らは先行研究において、ブタ歯髄細胞への Er:YAG レーザーおよび半導体レーザー照射が、異なる作用機序でブタ歯髄細胞の硬組織形成細胞への分化、細胞増殖能の変化、アポトーシス誘導などへ影響を及ぼすことを確認した。【目的】本研究では、ヒト歯髄幹細胞 (hDPSC; Human Dental Pulp Stem Cells) に対する各レーザーの照射による細胞増殖能およびアポトーシス誘導への影響を明らかとすることを目的とした。【材料および方法】今回の実験では hDPSC および不死化ブタ歯髄細胞 (PPU-7) を用いた。細胞播種 1 日後の hDPSC および PPU-7 に対して各レーザーを照射後、MTS アッセイによる細胞増殖能の測定とカスパーゼ 3 抗体を用いた免疫染色によるアポトーシスの観察を行い未照射群と比較した。【結果】細胞増殖能への影響は、Er:YAG レーザー照射群では、照射後 1 日目で減少するものの、3, 4 日目で未照射群と比較して僅かに上昇した。半導体レーザー照射群では、未照射群との差は認められなかった。アポトーシス誘導への影響は、Er:YAG レーザー照射群では照射後 1, 3 日目にカスパーゼ 3 陽性細胞が僅かに認められたが、半導体レーザー照射群では認められなかった。また、Er:YAG レーザー照射群では、培養細胞のプレートからの剥離が認められた。【考察】Er:YAG レーザー照射群では、照射直後の細胞数減少、培養細胞のプレートからの剥離およびアポトーシス誘導が観察されたが、これは同レーザーが表面吸収型であることが影響していると推察される。今後は hDPSC における Er:YAG レーザーの作用機序の解析を進める予定である。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Effect of Er:YAG laser and diode laser irradiation in human pulp stem cells

---

○Yoshida R<sup>1</sup>, Yamakawa S<sup>1</sup>, Kobayashi K<sup>2</sup>, Yamamoto R<sup>3</sup>, Ohkuma R<sup>3</sup>, Karakida T<sup>3</sup>,  
Yamazaki Y<sup>1</sup>, Yamakoshi Y<sup>3</sup>, Hosoya N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Endodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Dent Hygiene, Tsurumi Junior Coll, <sup>3</sup>Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

---

Although laser irradiation (LI) is beneficial for dental treatment, there are still many unclear points about its mechanism of action and effects. Our objectives are to understand how Er:YAG-LI and diode-LI modulate human pulp stem cells. Methods: Following the LI for human dental pulp stem cells (hDPSC) or porcine dental pulp-derived cell lines (PPU-7), cell proliferation was analysed by MTS assay. In addition, apoptosis index was calculated from immunohistochemical study with anti-cleaved caspase 3 antibody. Results and Discussions: The effect on cell proliferation decreased in the Er:YAG group on the first day after LI, but it was slightly increased on days 3 and 4 compared to the non-irradiated group. There was no difference between the diode-LI and non-irradiated group. In the effect on the induction of apoptosis in the Er:YAG-LI group, caspase-3-positive cells were observed on the first and third days after LI. No apoptosis was observed in the diode-LI group. We consider that the reduction in the number of cells, the detachment of cultured cells from the plate and the induction of apoptosis in Er:YAG-LI are due to the property as the surface-absorbing type.

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

---



## 1-PM17 近赤外線光線療法の薬剤関連性顎骨壊死への応用と分子機構の解明

○下平 剛, 大杉 勇人, 片桐さやか, 芝 多佳彦, 駒津 匡二, 劉 安豪, 林 培雅, 豊嶋 啓汰, 青木 章

医科歯科大 院医歯 歯周病

背景：地球上のあらゆる生物には、「光」を酸素や水と同じように受容し、利用する数多くの器官や仕組みが存在する。近赤外線を活用した光線療法（NIR-PT）の作用は癌や骨疾患等に対して一定の治療効果が認められている。一方、薬剤関連顎骨壊死（MRONJ）は顎骨特異的な難治性骨疾患であり、確実な治療法は未だ確立されていない。目的：MRONJのモデルマウスを用いて、NIR-PTによるMRONJ予防効果を検証し、その分子生物学的メカニズムを明らかにすることである。材料・方法：8週齢雌のC57BL6/Jマウスにシクロホスファミド(150 mg/kg)とゾレドロン酸水和物(125  $\mu$ g/kg)を投与し、投与開始後1週に右側第一臼歯の抜歯を行った。抜歯前は2回/週、抜歯後は1回/週の投薬を継続した(MRONJ群)。実験群では抜歯直後の照射を含め、計3回の照射を抜歯後1週までに行い、抜歯後2週以降は1回/週の照射を継続した(NIR-PT群)。抜歯後2週と5週において、抜歯窩の組織形態計測解析と $\mu$ CTによる骨構造解析を行った。抜歯後1週に患部周囲から歯肉と骨を採取し、それぞれRNA-seq解析と細菌叢解析を行った。結果と結論：MRONJ群では抜歯後5週まで治癒不全を認めたが、NIR-PT群では抜歯窩の上皮化面積が2週及び5週において有意に増加した。また抜歯窩新生骨の容積も、NIR-PT群で抜歯後5週に有意に増加した。RNA-seq解析より、歯肉ではNIR-PT群において凝固制御系—上皮・骨系のクロストークで重要な役割を担うEndothelial Protein C Receptorの遺伝子発現が上昇し、骨では骨再生に関連する遺伝子群の亢進が認められた。一方で、細菌叢は両群間での差はなかったことより、NIR-PTは宿主応答を活性化することにより、MRONJ発症を抑制する可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Application of near-infrared photo therapy on medicine-related osteonecrosis of the jaw

○Shimohira T, Ohsugi Y, Katagiri S, Shiba T, Komatsu K, Liu A, Lin P, Toyoshima K, Aoki A

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

Purpose: To verify the preventive effect of NIR-PT on MRONJ and clarify the molecular-biological mechanism of the treatment. Materials and methods: Cyclophosphamide (150 mg/kg) and zoledronate acid (25microgram/kg) were administrated to 8-week-old C57BL6/J female-mice, and first-molar of upper-right jaw was extracted after 1-week. Administration was performed twice a week pre-extraction and once a week post-extraction, up to 35-days (MRONJ). Meanwhile, near-infrared laser was irradiated 3-times on first week post-extraction, including immediate irradiation after extraction. Then, from second week, weekly irradiation was conducted up to 35-days post-extraction (NIR-PT). Tissue and bone morphometric analysis of the extraction sockets were performed at 14 and 35-days post-extraction. Gingiva and bone of diseased area were collected 7-days post-extraction for RNA-seq and microbiome analysis. Results and conclusion: Epithelized area was significantly increased in NIR-PT after 14 and 35-days post-extraction. Additionally, newly formed bone volume was significantly increased at 35-days post-extraction. RNA-seq showed that gene expression of endothelial protein C receptor, which plays an important role in epithelial/bone-coagulation crosstalk, was significantly upregulated in gingiva of NIR-PT. Moreover, gene ontology terms related to bone regeneration were upregulated in bone of NIR-PT. However, no difference was shown in microbiome analysis, which suggests that NIR-PT suppress MRONJ by activating the host-response.

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

---

## 1-PM18 骨抽出物中に含まれる石灰化誘導因子の同定

---

○齊藤 悠<sup>1,2</sup>, 山本 竜司<sup>2</sup>, 大熊理紗子<sup>2</sup>, 唐木田丈夫<sup>2</sup>, 白井 麻衣<sup>1</sup>, 山越 康雄<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>鶴大 歯 補綴 1, <sup>2</sup>鶴大 歯 生化

抜歯後の骨吸収に対し、メンブレンを用いたスペースメイキングの有効性は知られている。我々はこれまでにメンブレンに脱灰骨シートを選択して骨再生誘導実験を行い、誘導物質がシート中に含まれる骨タンパク質に起因する結果を得ている。【目的】本研究は脱灰骨中に含まれる骨タンパク質の石灰化誘導物質の同定を目的とした。【材料および方法】動物実験は、ラット大腿骨を塩酸で脱灰した骨試料（DBS-P）とそこから塩酸グアニジンを用いて骨タンパク質を除去した試料（DBS-E）より脱灰骨シートを作成し、ラットへの移植実験を行い、移植8週後に移植物のmicro-CT撮影および解析を行った。次に生化学実験は、ラット脛骨より調製した骨粉を塩酸で脱灰後、塩酸グアニジンを用いて骨タンパク質を抽出した（G2画分）。さらにG2画分をヘパリンアフィニティークロマトグラフィー（Hep-AFC）によって分離し、得られた画分に対して電気泳動、質量分析、歯根膜由来細胞を用いたアルカリホスファターゼ（ALP）活性の測定およびPAI-1プロモーター遺伝子を用いたルシフェラーゼアッセイを行った。【結果および考察】動物移植実験では、DBS-Pで高度に石灰化が誘導されたが、DBS-Eでは石灰化が生じていなかったことより、DBS-Pに含まれるタンパク質画分に石灰化誘導能を有する物質が存在することが示唆された。この画分に相当するG2画分はHep-AFCにより5つの画分に分画され、3番目に溶出される画分（Hep-AFC-3）に高いALP活性が認められた。また、レポーター遺伝子解析においてもHep-AFC-3が高い活性を有していたことより、この画分にはトランスフォーミング成長因子ベータ（TGF- $\beta$ ）が存在することが考えられた。さらにHep-AFC-3には酸性タンパク質も複数存在することが判明し、現在TGF- $\beta$ との相互関係について検討中である。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Identification of mineralization-inductive substances in in decalcified bones

---

○Saito H<sup>1,2</sup>, Yamamoto R<sup>2</sup>, Chiba-Ohkuma R<sup>2</sup>, Karakida T<sup>2</sup>, Shira M<sup>1</sup>, Yamakoshi Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Removable Prosthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Our **objective** was to identify mineralization-inductive substances in bone proteins of decalcified bones. **Methods:** Two demineralized bone sheet were prepared from rat femora for animal transplant experiment. Following the transplant, each sheet was photographed by micro-CT and image-analyzed. On the other hand, the bone powder was prepared from rat tibia, and bone proteins were sequentially extracted with HCl and guanidine. The guanidine soluble extract (G2 extract) was fractionated by a heparin-affinity chromatography (Hep-AFC). Each fraction was characterized by SDS-PAGE, mass spectrometry, measurement of alkaline phosphatase (ALP) activity using human periodontal ligament cells and reporter gene analysis using a promotor of PAI-1 gene. **Results and Discussions:** In animal transplantation experiment, the highly mineralization was observed in the sheet containing proteins in the decalcified bone, but not in the protein-removed sheet. The G2 extract was fractionated five fractions by Hep-AFC and the third elution fraction (Hep-AFC-3) possessed high activities for ALP and for luciferase reporter-gene assay suggesting this fraction contains transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ ). Moreover, the mass spectrometry revealed that multiple acidic proteins are present in the Hep-AFC-3. We are currently investigating the interaction between those proteins and TGF- $\beta$ .

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

---

## 1-PM19 ピロカルピンとベタネコール刺激による唾液分泌変化の違い

○坂詰 博仁<sup>1,2</sup>, 山口 晴香<sup>2</sup>, 佐藤 律子<sup>3</sup>, 板垣 壮侑<sup>2</sup>, 吉田 織恵<sup>4</sup>, 根津 顕弘<sup>5</sup>, 谷村 明彦<sup>5</sup>, 田中 彰<sup>1</sup>, 森田 貴雄<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日歯大新潟 口外, <sup>2</sup>日歯大新潟 生化, <sup>3</sup>日歯大新潟短大 歯科衛生, <sup>4</sup>日歯大新潟 小児, <sup>5</sup>北医療大 歯 薬理

【目的】ムスカリン受容体アゴニストのピロカルピン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、継続的投与による唾液分泌の漸次的亢進を認めるが、その分子メカニズムは明らかになっていない。本研究では、同じムスカリン受容体アゴニストのベタネコールをラットに投与したところ、唾液分泌量の変化においてピロカルピンとは異なる結果が得られたので報告する。【方法】ラット（9週齢）に対しピロカルピン（Pilo）1 mg/kgを腹腔内投与し、全唾液分泌量を測定した。さらにその1週間後に同ラット（10週齢）に同濃度のPiloを腹腔内投与し、唾液分泌量を測定し1週間前と比較した。さらにベタネコール（Beth）を用いて同様にラットの全唾液分泌量の変化を比較した。また、ヒト唾液腺由来細胞（HSY）を無血清培地でPiloまたはBethで刺激し、タンパク質を採取しウェスタンブロットを行った。1次抗体にはCell Signaling TECHNOLOGYのERK1/2 Rabbit mAb, Phospho-ERK1/2 Rabbit mAbを用いてアゴニスト刺激によるリン酸化の亢進の有無を確認した。【結果と考察】ラットへPilo, Beth（1 mg/kg）を2回投与し、分泌量の変化を比較した結果、Pilo刺激で唾液分泌量の増加を認めたのに対し、Beth刺激の場合は唾液分泌量の減少を認めた。また、HSYにおいてPiloまたはBeth刺激15分後で、共にERK1/2のリン酸化の亢進がみられた。これらのことから、PiloとBeth刺激による唾液分泌変化の違いは、MAPK系とは異なるシグナル経路を介する可能性が考えられる。また、ラットへのPilo投与により、いくつかの遺伝子の発現変化が認められ、HSYにおいてもこれらの遺伝子が発現していた。今後はこれらの遺伝子発現とアゴニスト刺激を介した細胞内シグナル経路の関係を明らかにし、ピロカルピンの分泌増強作用の分子メカニズムを解明する。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## The difference of changes of salivary secretion induced by stimulation with pilocarpine and bethanechol

○Sakazume H<sup>1,2</sup>, Yamaguchi H<sup>2</sup>, Sato R<sup>3</sup>, Itagaki T<sup>2</sup>, Yoshida O<sup>4</sup>, Nezu A<sup>5</sup>, Tanimura A<sup>5</sup>, Tanaka A<sup>1</sup>, Morita T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept. Oral Maxillofac Surg, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>2</sup>Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>3</sup>Dept. Dent Hygiene, Nippon Dent Univ Coll at Niigata, <sup>4</sup>Dept Pediatr Dent, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>5</sup>Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent

The muscarinic receptor agonist pilocarpine (Pilo) is used as a salivary stimulant for xerostomia such as Sjögren's syndrome, and its continuous administration has been shown to progressively increase salivary secretion, but the molecular mechanism is still unclear. In the present study, we report on the administration of bethanechol (Beth), also a muscarinic receptor agonist, to rats, which showed different results from those of Pilo in terms of changes in salivary secretion. As the results of twice intraperitoneal administration of Pilo and Beth (1 mg/kg) to rats, Pilo stimulation caused an increase in salivary secretion at 2nd administration, whereas Beth caused a decrease in salivary secretion. In addition, as the results of Western blot analysis, both Pilo and Beth stimulation in HSY cells resulted in an increase in MAPK phosphorylation. These findings suggest that the enhanced effect of Pilo on salivary secretion are due to different signal mechanism from MAPK pathway. We found Pilo-induced changes of the expression of several genes in rats, which were also expressed in HSY cells. We are trying to elucidate the relation of the expression of these genes and intracellular signal mechanisms by agonist stimulations, and the molecular mechanisms underlying the enhancement of Pilo-induced salivary secretion.

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

---

## 1-PM20 唾液腺における Id4 の役割と病態への関与

---

○木村 宗惟<sup>1,2</sup>, 林 慶和<sup>1,3</sup>, 佐伯 彩華<sup>1</sup>, 安河内 篤<sup>2</sup>, 中村 誠司<sup>2</sup>, 自見英治郎<sup>1</sup>,  
安河内 (川久保) 友世<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 OBT 研究セ, <sup>2</sup>九大 院歯 顎顔面腫瘍制御, <sup>3</sup>福歯大 生体構造 機能構造

---

Id (Inhibitor of DNA binding/differentiation) は, basic helix-loop-helix 型転写因子の機能を抑制的に制御する転写因子群であり, Id1-Id4 の 4 種類が存在する. 先行研究において, Id タンパク質が細胞分化や増殖に関わり, その欠損によって様々な病態を呈することが明らかとなっているが, Id4 の生理機能の詳細はほとんど明らかとなっていない. そこで, 本研究では, 唾液腺における Id4 の役割について検討した.

Id4 欠損 (Id4 KO) マウスを用いた解析では, Id4 欠損により, 顎下腺重量ならびに唾液分泌量の低下が認められた. また, 組織学的解析において, Id4 KO マウスの顎下腺で, 各種分化マーカー (AQP5, KRT14,  $\alpha$ -SMA, KRT19) の発現亢進を認め, 腺房内に顕著な粘液貯留を認めた. これらの結果から, Id4 が, 唾液腺の分化過程や, 正常な機能発揮に重要な役割を果たしていると考えられた.

続いて, Id4 がヒト病態に関与している可能性を検討するために, 唾液分泌量低下をきたす代表的疾患であるシェーグレン症候群と IgG4 関連疾患 (IgG4-RD) の唾液腺生検検体を用いて, 検討を行った. その結果, IgG4-RD 顎下腺組織において, Id4 の発現レベルが顕著に低下していることが観察された. また, IgG4-RD 患者血清を用いた microRNA (miRNA)-mRNA 統合解析を行ったところ, IgG4-RD 患者では, 健常人に比べ, 血清中 hsa-miR-486-5p が有意に増加しており, 当該 miRNA が唾液腺における Id4 の発現を制御していることが示唆された.

以上の結果から, Id4 は, 唾液腺の恒常性維持に必須であり, その発現低下は IgG4-RD の病態と深く関与している可能性が示唆された.

非会員共同研究者: 矢野恵奈<sup>1</sup>, 森山雅文<sup>2</sup>

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## The role of Id4 in the salivary gland and its involvement in pathology

---

○Kimura S<sup>1,2</sup>, Hayashi Y<sup>1,3</sup>, Saeki A<sup>1</sup>, Yasukochi A<sup>2</sup>, Nakamura S<sup>2</sup>, Jimi E<sup>1</sup>,  
Kawakubo-Yasukochi T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>2</sup>Sect Oral Maxillofac Oncol, Fac Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>3</sup>Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll

---

Id (inhibitor of DNA binding/differentiation), a group of dominant negative transcriptional regulators for basic helix-loop-helix transcription factors, consists of Id1-Id4. Previous studies showed Id proteins are involved in cell differentiation and proliferation, and those deficiency leads various pathological conditions. However, the physiological functions of Id4 have not been clarified. We thus investigated the role of Id4 in salivary glands.

In this study, we first analyzed the impact of Id4 on salivary glands using Id4 deficient (Id4 KO) mice. The submandibular glands (SMGs) weight and saliva secretion in Id4 KO mice were significantly decreased compared to those in wild-type mice. Histological analysis revealed that increased expressions of various differentiation markers and significant mucus accumulation were observed in the SMGs of Id4 KO mice. Subsequently, we investigated the possibility that Id4 is involved in human pathology, such as Sjögren's syndrome and IgG4-related disease (IgG4-RD) in which saliva secretion often decreases. As a result, the expression level of Id4 was significantly decreased in the SMG tissues of IgG4-RD, and its expression was suppressed by the specific miRNA.

Taken together, we suggest that Id4 is essential for the homeostasis of salivary glands, and it might be deeply associated with the pathophysiology of IgG4-RD.

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

---



---

## 1-PM21 転写因子 NF- $\kappa$ B の新たな活性化制御機構とその機能解析

---

○青木 司<sup>1,2</sup>, 松田 美穂<sup>2</sup>, 自見英治郎<sup>2</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 歯周, <sup>2</sup>九大 院歯 口腔細胞工学

---

転写因子 NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor- $\kappa$ B: NF- $\kappa$ B) は炎症反応や免疫応答に重要な遺伝子の発現を調節する。近年, I $\kappa$ B $\alpha$  のリン酸化・分解による活性制御のほか, NF- $\kappa$ B のメインサブユニットである p65 のリン酸化が転写活性の調節に重要であることが報告されているが, その生理機能は不明な点が多い。本研究では p65 のリン酸化部位の中で特に報告の多い 536 番(マウスでは 534 番: S534)のセリン残基の生理機能を解明するために, アラニンに置換したノックイン(S534A KI)マウスを作製した。本マウスは, 野生型(WT)マウスと比べて外見上, および主要組織の組織形態に差異はなかった。WT および S534KI マウスから調製したマウス胎仔線維芽細胞(MEF)を TNF $\alpha$  で刺激し, NF- $\kappa$ B および MAPK 経路の活性化を検討したところ, WT MEF と比較して, S534A MEF では S534 のリン酸化が認められず, I $\kappa$ B $\alpha$  のリン酸化および MAPK 経路の主要分子の発現量およびリン酸化に影響はなかった。一方, NF- $\kappa$ B の転写活性, および IL-1 $\beta$  等の NF- $\kappa$ B 標的遺伝子の発現量が亢進した。また各々の MEFs を用いた RNA-seq の結果から, S534A MEF では細胞外基質の分解に関わる分子群の発現が上昇していた。次に 8-10 週齢の雄 WT および S534A KI マウス上顎右側第二大臼歯を 6-0 絹糸で結紮した歯周炎モデルマウスを用いて, 7 日後に歯槽骨の 3 次元解析, 組織学的解析および歯周組織の遺伝子発現解析を行った。S534A KI マウスで歯槽骨の骨吸収が有意に増加し, 歯周組織の IL-1 $\beta$  や RANKL の遺伝子発現が亢進した。また, 歯槽骨吸収部に多数の破骨細胞数が存在した。以上より, p65 の 536 番セリンのリン酸化は, 炎症反応を負に調節することが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Analysis of novel regulatory mechanism of nuclear factor- $\kappa$ B

---

○Aoki T<sup>1,2</sup>, Matsuda M<sup>2</sup>, Jimi E<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sect Periodontol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent

---

Nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) regulates the expression of various genes involved in inflammation and immunity. Numerous reports suggest the importance of serine at 536 (534 in mice; S534) of the p65 subunit, but its physiological function is unknown. To reveal the physiological role of S534 phosphorylation, we generated S534A knock-in (KI) mice, in which S534 of p65 was substituted with alanine. There was no significant difference in growth and major tissue morphology between wild-type (WT) and S534A KI mice. We prepared mouse embryonic fibroblasts (MEF) of each genotype and stimulated them with TNF $\alpha$ . S534A substitution did not affect TNF $\alpha$ -induced degradation of  $\kappa$ B and expression, as well as phosphorylation of MAPK molecules, while transcriptional activity and expression level of target gene (e. g. IL-1 $\beta$ ) of NF- $\kappa$ B was higher in S534A MEFs. RNA-seq revealed the increased expression of genes associated with the degradation of extracellular matrix in S534A. To investigate the effect of S534A in vivo, we performed ligature-induced periodontitis in WT and S534A mice. Alveolar bone resorption was enhanced in S534A mice, with increased osteoclast number and gene expression (RANKL and IL-1 $\beta$  in periodontal tissues). These results suggest that the phosphorylated S534 of p65 negatively regulates inflammatory responses.

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

---

## 1-PM22 酸化ストレスはマウス顎関節由来線維芽細胞様滑膜細胞において MEK/ERK 依存的に CXCL15 mRNA の発現を増強する

○浅沼 莞奈<sup>1</sup>, 横田 聖司<sup>2</sup>, 帖佐 直幸<sup>2</sup>, 佐藤 和朗<sup>1</sup>, 石崎 明<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岩医大 歯 矯正, <sup>2</sup>岩医大 歯 生化

【目的】変形性顎関節症 (TMJ-OA) は、炎症と酸化ストレスによって引き起こされる多因子性疾患である。機械的ストレスによる顎関節組織への損傷は、滑液中にヒドロキシルラジカル (OH<sup>-</sup>) などの活性酸素種 (ROS) の産生を増加させる。しかし、TMJ-OA の病変内において、ROS で損傷された滑膜細胞が、どのような分子メカニズムで炎症性細胞をホーミングするのかはまだ明らかにされていない。本研究では OH<sup>-</sup> 前駆物質としての過酸化水素 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) を投与することで、マウス顎関節由来線維芽細胞様滑膜細胞 (FLS) におけるケモカイン発現がどのように変化するか調べた。【方法】mRNA レベルでのケモカインの発現量の変化は、定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-qPCR) 分析を用いて評価した。FLS 細胞における細胞外シグナル調節キナーゼ (ERK1/2) のリン酸化は、ウエスタンブロット分析を用いて評価した。【結果】H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> は、FLS 細胞において好中球走化性誘導物質である CXCL15 の発現を mRNA レベルで有意に促進した。また H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> は、FLS 細胞における細胞外シグナル調節キナーゼ (ERK1/2) のリン酸化を有意に増強した。マイトジェン活性化タンパク質 (MAP)/ERK キナーゼ (MEK) 阻害剤である U0126 は、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> による CXCL15 の mRNA の発現増強効果を有意に抑制した。ROS 阻害剤である N-アセチル-L-システインは、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> によって誘発される CXCL15 mRNA 発現の増強効果を一部かつ有意に抑制した。【考察】H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 誘発性酸化ストレスは、マウス TMJ 由来の FLS 細胞において MEK/ERK を介して CXCL15 mRNA の発現を促進した。酸化ストレス環境下の FLS 細胞が CXCL15 を産生することにより、好中球を TMJ-OA 病変内に動員し、局所の炎症反応を悪化させる可能性が示唆された。【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Oxidative stress increased expression of CXCL15 mRNA via a MEK/ERK-dependent manner in fibroblast-like synoviocytes derived from mouse temporomandibular joint

○Asanuma K<sup>1</sup>, Yokota S<sup>2</sup>, Chosa N<sup>2</sup>, Satoh K<sup>1</sup>, Ishisaki A<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Orthodont, Iwate Med Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Biochem, Iwate Med Univ Sch Dent

Purpose: Temporomandibular joint-osteoarthritis (TMJ-OA) is a multifactorial disease induced by inflammation and oxidative stress. Mechanical stress-induced injury of TMJ tissues caused production of reactive oxygen species (ROS) such as hydroxyl radical (OH<sup>-</sup>) into synovial fluid. However, it remains to be clarified that how ROS-injured synoviocytes recruited inflammatory cells into TMJ-OA lesion. We evaluated that how a source of OH<sup>-</sup>, hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) treatment affected chemokine expression in fibroblast-like synoviocytes (FLSs) derived from mouse TMJ. Materials&Methods: Chemokine expression was evaluated by using reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) analysis at mRNA level. Phosphorylation status of extracellular signal-regulated kinase (ERK) 1/2 in FLSs was evaluated by using western blot analysis. Results: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> significantly promoted mRNA expression of neutrophil chemoattractant CXCL15 in FLSs. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> significantly upregulated phosphorylation status of extracellular signal-regulated kinase (ERK) 1/2 in FLSs. Mitogen-activated protein (MAP) / ERK kinase (MEK) inhibitor, U0126 clearly abrogated the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced increase of CXCL15 mRNA expression. ROS inhibitor, N-acetyl-L-cystein partially and significantly downregulated the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced increase of CXCL15 mRNA expression. Conclusion: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress promoted expression of CXCL15 mRNA via a MEK/ERK-dependent manner in FLSs derived from mouse TMJ, suggesting that FLSs recruit neutrophils into TMJ-OA lesion by producing CXCL15, and then exacerbate local inflammatory response.

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

---

## 1-PM23 生体活性ガラス含有根管セメント上での蛍光発色ブタ不死化歯髄細胞の培養

---

○中道 匠<sup>1</sup>, 山本 竜司<sup>2</sup>, 大熊理紗子<sup>2</sup>, 唐木田丈夫<sup>2</sup>, 山越 康雄<sup>2</sup>, 細矢 哲康<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 歯内, <sup>2</sup>鶴大 歯 生化

---

歯内療法分野において、Mineral Trioxide Aggregate (MTA)は種々の目的で応用されているが、コスト面や微量ではあるがヒ素を含む等の課題も少なくない。

**【目的】**本研究では、MTAに類似した系統の材料として開発された、生体活性ガラス含有根管セメント(ニシカ キャナルシーラー BG multi, 日本歯科薬品)を被験試料とし、ディスク状の試料上で培養したブタ不死化歯髄細胞 (PPU7) の特性を調べることで、細胞に与える様々な影響を観察することを目的とした。

**【材料および方法】**被験試料をチタンディスクにコーティングし、擬似体液 (PBF) 中で5日間硬化させ6 well プレートに静置した。赤色蛍光タンパク質 (DsRed) 遺伝子を導入したブタ不死化歯髄細胞 (DsRed-PPU7) を播種し、MEM $\alpha$  培地で32日間培養した。培養細胞は蛍光顕微鏡下で観察を行い、細胞数の変化を蛍光面積から算出した。また硬化後の被験試料を、リン酸バッファーまたは炭酸水素ナトリウムバッファーを含むMEM $\alpha$  培地およびトリス塩酸バッファーを含むPBFに14日間浸漬し、被験試料表面の構造分析を行った。さらに、ディスクを浸漬した培地のpHの継時的変動についても調査した。

**【結果および考察】**播種後、細胞数は急激に減少したが、8日目より増加に転じ、以後指数的に増加した。また、被験試料表面の構造にも変化が見られ、培地のpHも上昇傾向を示した。播種後、急激に細胞数が低下した原因として、被験試料に含まれるカルシウムシリケートガラスの影響により、pHが上昇したことが考えられる。また、減少から増加に転じた原因も、pHや被験試料表面の構造変化が影響を与えた可能性が考えられる。これら要因については、引き続き検討中である。

**【利益相反】**利益相反状態にはありません。

---

### Characterization of fluorescent porcine dental pulp cell on bioactive glass cement

---

○Nakamichi T<sup>1</sup>, Yamamoto R<sup>2</sup>, Ohkuma R<sup>2</sup>, Karakida T<sup>2</sup>, Yamakoshi Y<sup>2</sup>, Hosoya N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Endodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

---

Our objective was to investigate the characteristics of immortalized porcine dental pulp cells introduced with the red fluorescence protein gene (DsRed-PPU7) cultured on bioactive glass cement (Canal Sealer BG multi:BG, Nippon Shika Yakuhin Co.) which developed with the similar effect as MTA. Methods: The BG was coated on a titanium disk and hardened in pseudo body fluid (PBF) for 5 days. BG disc was then immersed in Minimum Essential Medium with alpha modifications (MEM $\alpha$ ) on a 6 well plate, and the DsRed-PPU7 was seeded on it (DsRed-PPU7-BG). Following the culture for 32 days, cell population of DsRed-PPU7-BG was counted over time by fluorescence microscope. Apart from this, the BG disk was immersed in MEM $\alpha$  containing phosphate or sodium bicarbonate buffers or PBF containing Tris-HCl buffer. Following 14 days of immersing, the structure change of the BG surface and the variation in pH in medium were analyzed over time. Results and Discussion: The population of DsRed-PPU7-BG was remarkably decreased, but it revealed an exponentially increasing trend since the 8th day. Both structure change of BG surface and the variation in pH in medium were also observed. We are currently investing the relationship between components in BG and cell population of DsRed-PPU7-BG.

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

---

---

## 1-PM24 顎顔面形成における Fat1 の役割

---

○邵 文華, 毛利 安宏, 工藤 保誠  
徳大 院医歯薬 口腔生命科学

---

### The role of Fat1 in maxillofacial development

---

○Shao W, Mouri Y, Kudo Y

Dept Oral Biosci, Tokushima Univ, Grad Sch of Biomed Sci

---

FAT cadherin are atypical cadherins, participates in cell differentiation and carcinogenesis. In head and neck cancer patients, FAT1 gene mutation is frequently observed. However, it is not clear what signaling pathways are involved in the development of facial deformities due to FAT1 defects. To elucidate the role of Fat1 in oral carcinogenesis and mandibular development, we established Fat1-knock-in (KI) mice model that mimics gene mutation observed in head and neck cancer patients. In similar to the phenotype in FAT1 knockout mice, Fat1 homozygous mutant (Fat1KI/KI) mice showed neonatal lethal phenotype. We observed that 60% of Fat1KI/KI at embryonic day 14.5 (E14.5) exhibit severe mandibular and tongue dysplasia. To further investigate the role of Fat1 in mandibular development, we analyzed the first pharyngeal arch (1st arch), some E10.5 Fat1KI/KI mice showed abnormal right-sided 1st arch. Then, we extracted RNA from the 1st arch of E10.5 Fat1KI/KI and wild type littermates for RNA-seq. RNA-seq analysis revealed that most of the genes with lower expression in E10.5 Fat1KI/KI were found to be expressed in the distal region of the 1st arch. Now we are analyzing 1st arch of E10.5 Fat1KI/KI mice. This study is expected to reveal novel FAT1 functions and molecular pathways in maxilla-facial formation.

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

---



---

## 1-PM25 骨芽細胞分化における細胞老化の影響

---

○松井 龍一<sup>1</sup>, 上原 俊介<sup>2</sup>, 宇田川信之<sup>3</sup>, 小林 泰浩<sup>3</sup>

<sup>1</sup>松歯大 院 総歯研, <sup>2</sup>松歯大 生化, <sup>3</sup>松歯大 総歯研

---

加齢に伴い、骨髄内では老化細胞が蓄積し骨芽細胞/脂肪細胞への分化が脂肪細胞への分化へ転換が亢進するため、脂肪髄を呈することが報告されている。このような加齢に伴う変化が、骨幹細胞の老化に起因するものか明らかでない。そこでマウス間葉系幹細胞株 ST2 細胞を用いて、細胞老化が骨芽細胞への分化にどのような影響を与えるが明らかにするため本研究を行った。ST2 細胞を 55 回以上継代し、細胞老化を誘導した。Early passage (<Passage 8) ST2 細胞と late passage (>Passage 55) ST2 細胞の細胞増殖能、SA-B-Gal 陽性細胞やリアルタイム PCR による老化マーカー遺伝子発現を比較した。Late passage ST2 細胞は細胞増殖の低下、SA-B-Gal 陽性細胞の増加、老化マーカー遺伝子である Cdkn2a, Cdkn1a の発現増加、LaminB1 発現低下から細胞老化を呈することが示唆された。次に、ST2 細胞を石灰化誘導培地で培養しアルカリフォスファターゼ染色、アリザリンレッド S 染色を行った。また、Wnt3a による ALP 発現も確認した。Late passage ST2 細胞は ALP 陽性細胞数、石灰化の低下を示し、Wnt3a 誘導性 ALP 発現も同様に低下していた。リアルタイム PCR を行い Wnt/beta-catenin シグナル阻害因子発現を確認し、Late passage ST2 細胞は Dkk1 の発現が高くなっていることがわかった。Late passage ST2 細胞において Dkk1 のノックダウンを行うと、Wnt3a による ALP 発現誘導が回復することを確認した。HrasV12G, p16 の過剰発現を行うと細胞老化を誘導され Dkk1 発現が上昇し、Wnt3a による ALP 発現誘導が低下した。以上の結果から細胞老化は Dkk1 の発現亢進を介して、Wnt/beta-catenin シグナルを阻害し骨芽細胞分化を抑制することが示唆された。非会員共同演者: 石田 昌義

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Effect of cellular senescence on osteoblast differentiation

---

○Matsui R<sup>1</sup>, Uehara S<sup>2</sup>, Udagawa N<sup>3</sup>, Kobayashi Y<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Matsumoto Dent Univ Grad Sch Oral Med, <sup>2</sup>Matsumoto Dent Univ Oral Biochem, <sup>3</sup>Matsumoto Dent Univ Oral Med

---

It has been reported that with aging, the accumulation of senescent cells in the bone marrow and increased conversion of osteoblast/adipocyte differentiation to adipocyte differentiation results in fatty marrow. It is not clear whether these age-related changes are due to aging of mesenchymal stem cells. In this study, we used the mouse mesenchymal stem cell line ST2 cells to clarify how cellular senescence affects differentiation into osteoblasts. The results showed that late passage ST2 cells exhibited decreased cell proliferation, increased SA-b-Gal positive cells, changed expression of senescence marker genes, suggesting that ST2 cells exhibit cellular senescence. Next, ST2 cells were cultured in calcification-inducing medium and stained with alkaline phosphatase and alizarin red S stain. ALP expression by Wnt3a was also confirmed. Late passage ST2 cells showed a decrease in ALP-positive cell number and calcification, as well as Wnt3a-induced ALP expression. Dkk1 expression was elevated in late passage ST2 cells. The knockdown of Dkk1 in late passage ST2 cells restores Wnt3a-induced ALP. Cellular senescence induced by Overexpression of HrasV12G and p16 increased Dkk1 expression, and decreased Wnt3a-induced ALP expression. These results suggest that cellular senescence of MSCs inhibits Wnt/beta-catenin signaling and osteoblast differentiation through increased of Dkk1 production

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

---

---

## 1-PM26 細胞外 pH は骨細胞による骨代謝回転調節を制御する

---

○天田かおり<sup>1</sup>, 宮本 洋一<sup>2</sup>, 上條竜太郎<sup>2</sup>

<sup>1</sup>昭大 歯 口腔外科 顎顔面口腔外科, <sup>2</sup>昭大 歯 口腔生化学

---

**【目的】** 骨は、骨表面に存在する破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成を繰り返す動的組織である。近年、骨細管中に存在する骨細胞による破骨細胞と骨芽細胞の分化と機能の制御が注目されている。例えば、骨細胞は、破骨細胞分化誘導因子 RANKL や骨芽細胞分化抑制因子スクレロスチンを産生する。骨組織は、さまざまな要因で酸性化することから、今回、骨細胞の骨代謝調節機能に対する酸性化の影響を解析した。**【方法】** マウス骨細胞株 OCY454 細胞におけるスクレロスチン、RANKL、破骨細胞分化抑制因子オステオプロテゲリン(OPG)の発現に対する培地 pH の影響を解析した。OCY454 細胞をさまざまな pH の培地で培養し、これらに因子のタンパク質レベル及び mRNA 発現に及ぼす酸性化の影響を ELISA および real-time-PCR で評価した。スクレロスチン遺伝子の発現を抑制する HDAC5 の細胞内分布を細胞免疫化学的に解析した。また、カルモジュリン依存性キナーゼ II (CaMKII) 阻害剤の sclerostin 発現に対する効果を解析した。**【結果】** 細胞外酸性化は、OCY454 細胞におけるスクレロスチンと OPG の発現を上昇させるとともに細胞内 Ca<sup>2+</sup> の上昇と HDAC5 の核外輸送を誘導した。また、CaMKII の阻害は、OCY454 細胞におけるスクレロスチンの発現を低下させた。**【考察】** 骨細胞の細胞外酸性化は、細胞内 Ca<sup>2+</sup> 上昇、CaMKII 活性化、HDAC5 のリン酸化による核外移行によりスクレロスチン遺伝子の発現を上昇させたと考えられる。糖尿病や悪性腫瘍は体液を酸性化することから、このような状況下での骨組織の酸性化は、骨細胞を介して骨代謝回転を抑制する可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Extracellular pH regulates bone turnover regulation by osteocytes

---

○Amada K<sup>1</sup>, Miyamoto Y<sup>2</sup>, Kamijo R<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral and Maxillofac Surg, Showa Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent

---

**Objectives:** Bone resorption by osteoclasts and bone formation by osteoblasts repeat during our lifetime. The regulation of differentiation and functions of these cells by osteocytes has been recently drawing attention. It is known that osteocytes produce RANKL, the essential cytokine for osteoclastogenesis, and sclerostin, an inhibitor of osteoblast differentiation. Since it is known that various factors cause acidification of bone tissue, here we studied the effect of acidification on the functions of osteocytes. **Methods:** We examined the effect of medium pH on the expression of sclerostin, RANKL, and osteoprotegerin (OPG), an osteoclast differentiation-inhibitory factor, in the mouse OCY454 osteocytes. The amounts of sclerostin, RANKL, and OPG proteins and their mRNAs were examined by ELISA and real-time PCR. Subcellular distribution of HDAC5, which suppresses sclerostin gene expression, was analyzed immunocytochemically. The effect of a calmodulin-dependent kinase II (CaMKII) inhibitor on sclerostin expression was also examined. **Results:** Extracellular acidification increased the expression of sclerostin and OPG and intracellular Ca<sup>2+</sup> and induced extra-nuclear transport of HDAC5. Also, calmodulin-dependent kinase II inhibition decreased sclerostin expression in OCY454 cells. **Discussion:** Diabetes and malignancy acidify body fluids. The present results suggest that extracellular acidification may inhibit bone metabolism via osteocytes.

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

---

## 1-PM27 パーキンソン病病態と関連した破骨細胞分化を促進する新たな脱ユビキチン化経路の同定

○千葉 満生<sup>1</sup>, 星川 聖良<sup>1</sup>, 齋藤 幹<sup>1</sup>, 千葉 雄太<sup>2</sup>, 山田 亜矢<sup>1</sup>, 福本 敏<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>東北大学 院歯 小児歯, <sup>2</sup>九大 院歯 小児口腔

アルツハイマー病やパーキンソン病に代表される神経変性疾患は、超高齢化社会を反映してその発症が増加の一途をたどっており、これら疾患に対する社会的対策が重要な課題となっている。またパーキンソン病患者においては重度の運動機能障害が問題となるが、転倒等の症状に依存しない骨粗鬆症病態に起因した骨折が多く認められる報告から、本研究では、疾患モデルの解析を通じた骨粗鬆症発症分子機序の一端を解明することを目的とした。パーキンソン病の原因遺伝子が骨代謝制御に関与する可能性を考慮し、既知原因遺伝子群の中から骨組織に発現が認められるタンパク質として UCHL1 に着目した。そこで、本分子の機能不全が骨粗鬆症病態の一因となる破骨細胞形成の促進に関与するか調べるため、マウスマクロファージ様細胞株 RAW264 細胞に対して CRISPR-Cas9 による *UCHL1* ノックアウト (*UCHL1*-KO) を試みた。樹立した *UCHL1*-KO 細胞株とその親株を用い、RANKL による破骨細胞分化誘導処理後の細胞を TRAP 染色により染色したところ、*UCHL1*-KO 細胞株において細胞融合が進んだ多核破骨細胞が多く認められた。また、破骨細胞分化マーカー遺伝子の発現を RT-qPCR により定量した結果、*UCHL1*-KO 細胞株において破骨細胞分化マーカーの上昇が認められた。さらにプロテオーム解析から、UCHL1 が制御する破骨細胞分化誘導シグナルとして Akt1 を同定した。生体内における UCHL1 の骨形成への寄与を解析するため、UCHL1 欠失型パーキンソン病モデルマウス (*gad* マウス) を用い組織学的な解析を行ったところ、*gad* マウスにおける破骨細胞活性の上昇が示唆された。以上の解析結果から、UCHL1 タンパク質はマクロファージの破骨細胞への分化を抑制しており、その機能不全により破骨細胞形成が促進し骨粗鬆症病態を引き起こすと考えられた。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### Deubiquitinase-mediated regulation of osteoclast differentiation

○Chiba M<sup>1</sup>, Hoshikawa S<sup>1</sup>, Saito K<sup>1</sup>, Chiba Y<sup>2</sup>, Yamada A<sup>1</sup>, Fukumoto S<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Div Ped Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

The number of neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's and Parkinson's diseases, has been increasing with the aging society, which has become a common health problem. Given that previous studies reported some of the patients with Parkinson's disease showed osteoporosis symptoms, we have attempted to elucidate the mechanisms of osteoporotic pathogenesis by analyzing the molecular link between Parkinson's disease and osteoporosis. Considering the possibility that Parkinson's disease-associated genes are involved in the regulation of bone metabolism, we focused on the physiological function of UCHL1. To investigate whether UCHL1 dysfunction is involved in osteoclastogenesis, we created CRISPR-Cas9-mediated *UCHL1* knockout RAW264 cells (*UCHL1*-KO cell) and evaluated the efficiency of RANKL-induced osteoclast differentiation by TRAP staining and qPCR analysis. We found that the knockout resulted in the differentiation of more advanced multinucleated fusion cells. Furthermore, we found Akt1 interact with UCHL1 as a substrate. To analyze the role of UCHL1 in bone formation in vivo, we performed bone morphometry analyses using UCHL1-deficient *gad* mice, then we found that osteoclast activity was elevated in UCHL1-null *gad* mice. These results suggest that UCHL1 plays a role in inhibiting the differentiation of macrophages into osteoclasts, and dysfunction of UCHL1 leads to excess osteoclast formation and bone fragility.

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

---

## 1-PM28 味覚嫌悪学習による不味と不安の表出は分界条床核の神経活動抑制によって増強される

---

○菊池 媛美<sup>1</sup>, 乾 賢<sup>1</sup>, 蘇 韶懿<sup>1</sup>, 船橋 誠<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北大 院歯 口腔生理, <sup>2</sup>北大 院歯 矯正

---

我々はマウスの分界条床核に抑制性 DREADD (hM4Di) を導入して同部の神経活動を抑制すると、味覚嫌悪学習が増強されることを見出した。これまでの実験においては、hM4Di 導入マウスの条件刺激摂取量が対照群よりも多く減少することから上記を判定した。本研究では、味覚嫌悪学習の増強と不味および不安との関連を解析して新たな知見を得たので報告する。雄性マウス 19 匹 (C57/BL6) の分界条床核に抑制性人工受容体である hM4Di を導入するためにウイルスベクターを注入した。飲水訓練後に 0.2% サッカリン溶液と 0.3 M 塩化リチウム (i.p., 2% B.W.) の対呈示による条件づけを行った。味覚嫌悪学習を獲得したマウスを以下の 2 群に分けて、サッカリン溶液を舐める行動 (リック) と飲み口への接近行動を測定した。1) 実験群 (n=10) : hM4Di の人工リガンドであるデスクロクロザピン (DCZ; 0.05 mg/kg, i.p.) 投与し、30 分後にサッカリン溶液を呈示した。2) 対照群 (n=9) : DCZ 溶媒 (1% DMSO 含有生理食塩水) を投与し、30 分後にサッカリン溶液を呈示した。測定終了後、全てのマウスの脳標本を作製し、分界条床核ニューロンにおける hM4Di の発現を組織学的に確認した。実験群と対照群のサッカリン溶液 (条件刺激) 摂取量は  $0.09 \pm 0.03$  ml と  $0.27 \pm 0.04$  ml, リック持続回数は  $5.35 \pm 1.78$  回と  $11.75 \pm 2.1$  回, 飲み口に接近しながらも摂取を回避する行動 (躊躇) は、 $12.3 \pm 2.5$  回と  $8.11 \pm 3.5$  回であった。実験群の条件刺激摂取量とリック持続回数には有意な減少を認め ( $p < 0.01$ ), 躊躇には増加傾向を認めた。リック持続回数は不味の指標であり、躊躇は不安の指標であることから、分界条床核の神経活動抑制は条件刺激に対する不味と不安を増大し、味覚嫌悪学習を増強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。

---

## Inhibition of the bed nucleus of the stria terminalis enhances disgust and anxiety in conditioned taste aversion

---

○Kikuchi E<sup>1</sup>, Inui T<sup>1</sup>, Su S<sup>1</sup>, Funahashi M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Func Sci, Grad Sch Dent Med Hokkaido Univ, <sup>2</sup>Dept Ortho, Div Den Med Grad Sch Dent Hokkaido Univ

---

In our previous studies, we found that the inhibition of the neurons in the bed nucleus of the stria terminalis (BNST) by using hM4Di enhanced the retrieval of conditioned taste aversion (CTA). In this study, we report new findings obtained by the analysis of the relation between enhanced taste aversion learning and disgust or anxiety. We injected male mice with AAV8-hSyn-hM4Di-mCherry (0.5 ul/side) into the BNST (n = 19). They received a pairing of a 0.2% saccharin solution as a conditioned stimulus (CS) and lithium chloride (0.3 M, 2% BW, i.p.). Half of the mice (n = 10) were administered with a hM4Di ligand deschloroclozapine (DCZ) and then exposed to the CS. Another half (n = 9) was administered with a vehicle (1% DMSO in saline) and then exposed to the CS. The DCZ administration significantly decreased the duration of licking compared with the vehicle control group ( $p < 0.01$ ). The DCZ-administered mice tended to show more frequent hesitant behavior to the CS. These results suggest that augmented disgust and anxiety induced by the inhibition of BNST neurons enhanced CTA.

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

---



---

## 1-PM29 ゲーピング反応測定によるエメチン誘発条件付け悪心の解析

---

○蘇 韶懿, 菊池 媛美, 吉澤 知彦, 乾 賢, 船橋 誠  
北大 院歯 口腔生理

---

### Analysis of emetine-induced conditioned nausea by measurements of gaping reactions

---

○Su S, Kikuchi E, Yoshizawa T, Inui T, Funahashi M  
Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

---

**Purpose:** Emetine is an emetic substance contained in *Cephaelis ipecacuanha*, and when intraperitoneally administrated as an unconditioned stimulus in rats, it causes a conditioned taste avoidance of the saccharin solution. However, it was unclear whether conditioned nausea occurs or not during avoidance behavior of saccharin after conditioning. Therefore, we measured the gaping reaction of rats and analyzed the emetine-induced conditioned nausea. **Materials & Methods:** Intraoral catheterization surgery was performed on male Sprague-Dawley rats (6 to 7 weeks old at the start of the experiment) under anesthesia. Within a few days of treatment, rats were conditioned with the intraoral administration of 0.1% saccharin solution (for 8 min with a flow rate of 0.5 ml/min) and the intraperitoneal administration of emetine (5.54 mg/kg, 1% BW). The taste response test was performed at the time of re-administration of the saccharin solution into the oral cavity, the emotional responses of the face and body of rats were recorded on video, and the number of gaping reactions was measured by the offline analysis. The number of gaping reactions by oral administration of emetine was also measured. **Results & Conclusion:** The number of gaping reactions in the emetine conditioning group was  $58.0 \pm 10.7$  times/8 minutes ( $n=5$ ), there was never a gaping reaction when saccharin was administrated for conditioning. When emetine was administrated orally, the number of gaping reactions was  $67 \pm 11.4$  times/2 minutes ( $n=4$ ). These findings demonstrated that emetine induces conditioned nausea and that rats develop conditioned aversion to saccharin. It was also suggested that the emetic effect of emetine on rats can be quantified by measuring gaping reactions. The authors declare no conflict of interest associated with this manuscript. And this work was supported by JST SPRING, Grant Number JPMJSP2119.

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

---

## 1-PM30 歯根膜固有感覚を支配する三叉神経中脳路核ニューロンの機械感受性の検討

○権 洗真<sup>1,2</sup>, 黄地 健仁<sup>2</sup>, 木村 麻記<sup>2</sup>, 中村 史朗<sup>3</sup>, 井上 富雄<sup>3</sup>, 澁川 義幸<sup>2</sup>, 一戸 達也<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 麻酔, <sup>2</sup>東歯大 生理, <sup>3</sup>昭大 歯 口腔生理

【目的】機械感受性イオンチャネルはニューロンに加えられた機械刺激を細胞膜電位信号に変換し、触圧覚・疼痛発生のような本質的な生体生理機能の基本プロセスに参与している。また筋紡錘やゴルジ腱器官にも機械感受性イオンチャネルが発現し固有感覚を担っている。一方で、歯根膜には咬合力を感知する固有受容器が存在し、三叉神経中脳路核ニューロンと接続し分布しているが、その固有感覚発生を理解する機械刺激受容の分子基盤は不明である。本研究では、歯根膜機械・固有感覚を担う分子基盤を明らかにすることを目的とした。【方法】Wistar ラット（15日齢）の両側上顎第一臼歯の歯根膜にニューロン順行性トレーサーコレラトキシンサブユニット B (CTB) を注入した。注入2日後に中脳部から延髄部までを取り出し、スライサーを用いて400  $\mu\text{m}$  の脳幹部スライス標本を作成し、30分間静置した。スライスから中脳路核ニューロンが局在する領域をパンチアウトし、酵素処理、トライチュレーションによって急性単離した。単離した細胞を10% FBSを含むL-15培地で48時間の初代培養を行った。単離した三叉神経中脳路核ニューロンを24時間培養後、固定し、ブロッキング処理を行い、一次抗体と二次抗体を反応させた。また単離細胞にカルシウム蛍光指示薬 (fura-2) を用いて、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$  を記録した。【結果・考察】三叉神経中脳路核ニューロンは、Peripherin, POUドメインクラス4転写因子1 (Brn3a), Piezo1チャネルに免疫陽性を示した。CTB陽性の三叉神経中脳路核ニューロンに細胞外 $\text{Ca}^{2+}$ 存在下で50 mM  $\text{K}^+$ 溶液を投与すると、一過性の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇が観測された。単離した三叉神経中脳路核細胞は脱分極刺激に応答したことからニューロンと同定された。また、単離細胞はPeripherin, Brn3aに陽性を示したことから末梢ニューロンと同定された。加えて本単離細胞はPiezo1チャネルを発現したことから機械受容に関わ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。

### Mechanosensitivity of mesencephalic trigeminal nucleus neurons

○Kwon S<sup>1,2</sup>, Ouchi T<sup>2</sup>, Kimura M<sup>2</sup>, Nakamura S<sup>3</sup>, Inoue T<sup>3</sup>, Shibukawa Y<sup>2</sup>, Ichinohe T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup>Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup>Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent

The detailed mechanosensitive function of periodontal ligament-derived neurons in the mesencephalic trigeminal nucleus (MesV) has remained to be clarified. We examined expression of mechanosensitive ion channel, and measured intracellular free  $\text{Ca}^{2+}$  concentration ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) by calcium fluorescence indicator (fura-2). We injected neuronal tracer cholera toxin B subunit into the periodontal ligament of bilateral maxillary first molars in postnatal day 15 Wistar rats. After two days, we removed brain rapidly and placed in cold oxygenated artificial cerebrospinal fluid. We cut the brainstem into 400  $\mu\text{m}$  transverse sections with a microslicer, punched out MesV neurons, and acutely isolated them. We recorded  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  in isolated MesV cells by fura-2. We also investigated expression of peripherin, POU domain class 4 transcription factor 1 (Brn3a), and Piezo1 channel by the immunofluorescence staining. Intracellular free  $\text{Ca}^{2+}$  concentration was increased transiently by an application of  $\text{K}^+$  (50 mM) solution. The response of MesV cells to depolarization stimuli indicated that the cells obtained were neuronal population. In addition, isolated MesV cells are peripheral sensory neurons because they were positive for peripherin and Brn3a. Furthermore, MesV cells expressed the Piezo1 channels, indicating that they are involved in mechanoreceptor.

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

---

## 1-PM31 ウレタン麻酔下のモルモットにおける脳波変化と顎運動の関連

---

○桂 (潤端) 尚<sup>1</sup>, 片桐 綾乃<sup>1</sup>, 豊田 博紀<sup>1</sup>, 増田 裕次<sup>2</sup>, 加藤 隆史<sup>1</sup>

<sup>1</sup>阪大 院歯 口腔生理, <sup>2</sup>松歯大 院歯 顎口腔機能

---

【目的】ウレタン麻酔の実験動物は、睡眠周期に類似した脳波活動を示すことが報告されている。本研究では、ウレタン麻酔下における中枢神経の状態変化と顎運動や咀嚼筋活動との関連を調べることを目的とした。

【方法】Hartley系雄性モルモットを用い、ウレタン(1.4~2.0 g/kg, 腹腔内注射)麻酔下にて、脳波、心電図及び頸筋、両側の咬筋、両側の顎二腹筋前腹の筋電図、呼吸活動、下顎運動を記録した。脳波の各周波数帯域の占有率から中枢神経の状態をNREM-like, transition, REM-likeの3つに分類した。また、顎運動の運動周期をもとに、顎運動が活発になる期間を分類した。

【結果】脳波は高振幅徐波を特徴とするNREM-like期から、transition期を経て、低振幅速波を特徴とするREM-like期へ移行した。顎運動は、下顎が2 Hz~4 Hzの急速なリズムミカルな反復性の運動を示す期間と、緩徐な顎運動(0.3 Hz以下)を示す期間と顎運動を認めない期間に分類できた。急速なリズムミカルな顎運動を示す期間では、反復性の咬筋活動が群発した。リズムミカルな顎運動の41%がNREM-like期、19.4%がtransition期、38.9%がREM-like期に発生し、脳波活動の睡眠周期様の変動とは同期していなかった。

【考察】ウレタン麻酔下では、リズムミカルな咀嚼筋活動を伴い顎運動が活発になる期間が存在するが、その期間の出現は脳波活動の周期的な変化と同期しなかった。ウレタン麻酔を用いた動物実験系は、睡眠中の顎運動発生機序に関する研究に活用できる可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Spontaneous repetitive jaw movements in relation to cyclic states of cortical activities in urethane anesthetized guinea pigs

---

○Katsura-Fuchihata S<sup>1</sup>, Katagiri A<sup>1</sup>, Toyoda H<sup>1</sup>, Masuda Y<sup>2</sup>, Kato T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Oral Maxillofac Biol, Grad Sch Oral Med Matsumoto Dent Univ

---

[Purpose] Studies suggest that urethane anesthesia can induce sleep-like, cyclic changes of brain states. This study aimed to characterize jaw movements in association with the brain states under urethane anesthesia.

[Method] In guinea pigs anesthetized with urethane, electroencephalogram (EEG), electrocardiogram, electromyograms from neck muscles, bilateral masseter and anterior belly digastric muscles, nasal respiratory airflow and jaw movements were recorded simultaneously. The brain states were classified into NREM-like, transition and REM-like states based on the occupancy of delta and theta EEG bands. Fluctuation of jaw movements was quantified by the Fast Fourier transform.

[Result] Brain states showed cyclic alternation from NREM-like state to REM-like state through transition state. The states of jaw movements were classified into the periods with rapid repetitive jaw movements and masseter activity ranging from 2 to 4 Hz, with slow periodic jaw movements ranging from 0.1 to 0.3 Hz, and without jaw movements. Majority of repetitive jaw movements occurred in NREM-like or REM-like states. The cyclic alternations of brain states and jaw movement states did not completely synchronize.

[Discussion] Repetitive jaw movements occurred spontaneously in urethane-anesthetized guinea pigs. The occurrence of repetitive jaw movements was not synchronized with the cyclic changes of sleep-like brain states.

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

---

## 1-PM32 象牙芽細胞における Piezo1-TRPV1 クロストークの検討

○倉島 竜哉<sup>1</sup>, 木村 麻記<sup>1</sup>, 黄地 健仁<sup>1</sup>, 黒田 英孝<sup>2</sup>, 澁川 義幸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 生理, <sup>2</sup>神歯大 院歯 歯科麻酔

象牙芽細胞は象牙質を形成するのみならず象牙質表面に加わる様々な刺激を受容し象牙質痛を発生する。我々は以前、象牙芽細胞の transient receptor potential (TRP) channel subfamilies (TRPV1, TRPV2, TRPV4, TRPA1) および Piezo1 channel (Piezo1) が機械感受性 Ca<sup>2+</sup>流入を活性化することを報告した。一方、膵臓腺房や細胞内皮細胞では Piezo1 活性化に伴い TRPV4 が活性化することにより、持続的な Ca<sup>2+</sup>流入が誘発されることが報告されている (Sandip et al. 2020; 2021)。しかし、象牙芽細胞におけるこれらイオンチャネル間のクロストークについては詳細な検討はなされておらず、不明な点が多い。そこで本研究では、象牙芽細胞における Piezo1 と TRP チャネルのクロストークについて検討した。新生仔ラット切歯から急性単離した象牙芽細胞に fura-2 を負荷し細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度 ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) を測定した。細胞外 Ca<sup>2+</sup>存在下で、Piezo1 の薬理的活性化薬である Yoda1 を投与すると、濃度依存的に [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> が増加した。この [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 増加は二相性を示した。[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> が静止レベル付近まで戻った後、Yoda1 と Piezo1 阻害薬である Dooku1 を同時に投与すると、二相性 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 増加の一相目に変化はなく、二相目の振幅のみが抑制された。また、持続的に Yoda1 を投与すると、持続的な [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 増加が観測された。Yoda1 と TRPV1 阻害薬である A784168 を同時に投与すると、持続的な [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 増加が見られたが、この振幅は Yoda1 のみを投与した場合と比較して減少した。象牙芽細胞において Piezo1 の活性化と TRPV1 が機能的に関連している可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### Piezo1-TRPV1 crosstalk in rat odontoblasts

○Kurashima R<sup>1</sup>, Kimura M<sup>1</sup>, Ouchi T<sup>1</sup>, Kuroda H<sup>2</sup>, Shibukawa Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup>Dept Dent Anesthesiol, Kanagawa Dent Univ

We have previously reported that direct mechanical stimulation activated the transient receptor potential (TRP) channel subfamilies (TRPV1, TRPV2, TRPV4 and TRPA1) and mechanosensitive ion channel, Piezo1 channels (Piezo1), in odontoblasts which are dentin forming and mechano-sensory receptor cells. Activation of these channels increased the intracellular free Ca<sup>2+</sup> concentration ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>). In pancreatic acini and endothelial cells, it has been reported that Piezo1 regulates mechanosensitive TRPV4 activation. However, the detailed mechanism of such crosstalk among Piezo1 and TRP channels in odontoblasts has remained to be clarified. In this study, we investigated the crosstalking machinery between Piezo1 and TRP channels in acutely isolated rat odontoblasts by measuring [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> using fura-2. In the presence of extracellular Ca<sup>2+</sup>, application of Yoda1 (1.5 min in duration), a pharmacological Piezo1 activator, increased [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> showing biphasic responses. Simultaneous application of Yoda1 and Dooku1, that antagonizes Yoda1-evoked activation of Piezo1, did not affect on the first phase of the Yoda1-induced increases, but significantly showed inhibitory effects on the second phase of them. Furthermore, sustained application of Yoda1 (10 min in duration) induced persistent increases in [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>, which were inhibited by A784168, TRPV1 antagonist. These results suggested functional Piezo1 and TRPV1 crosstalk in odontoblasts. COI:NO

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



## 1-PM33 ヒト Merkel 細胞における Piezo1 チャンネルの機能的発現

○金子 瑠実<sup>1,2</sup>, 黄地 健仁<sup>2</sup>, 木村 麻記<sup>2</sup>, 澁川 義幸<sup>2</sup>, 一戸 達也<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 麻酔, <sup>2</sup>東歯大 生理

【目的】毛包の外毛根鞘や口腔粘膜など、表皮に発現している遅順応性機械受容器である Merkel 細胞は、シナプスを介して感覚ニューロンと「Merkel 細胞-神経突起複合体」を形成している。以前、我々はハムスター Merkel 細胞に TRPV1, TRPV2, TRPV4 および TRPA1 チャンネルが発現しており、細胞膜伸展刺激受容に関連するであろうことを明らかにした。またハムスター Merkel 細胞が直接的な機械的刺激による細胞の変形に反応してグルタミン酸を細胞外に放出し、放出されたグルタミン酸がラット三叉神経節ニューロンの NMDA 受容体を活性化すると報告した。しかしヒト Merkel 細胞の機械受容性反応の報告はなく、本研究ではヒト Merkel 細胞の Piezo1 チャンネル発現を検討した。【方法】24 時間培養した不死化ヒト Merkel 細胞株を播種し、固定、ブロッキング処理を行い、1 次抗体を 4℃で 7-8 時間反応させ、2 次抗体を室温下で 1 時間作用させた。封入後、免疫蛍光を観察した。ヒト Merkel 細胞株に  $Ca^{2+}$  蛍光指示薬 (Fura2-AM) を 60 分負荷した。細胞への機械刺激は微小ガラス管を用いて行った。細胞内遊離  $Ca^{2+}$  濃度 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) 変化は 2 波長励起に対する蛍光強度比として測定した。【結果・結論】ヒト Merkel 細胞はサイトケラチン 8, サイトケラチン 14 およびサイトケラチン 20 抗体に免疫陽性を示したことから、Merkel 細胞と同定された。また機械感受性イオンチャンネルである Piezo1 チャンネルに免疫陽性を示した。Piezo1 チャンネルの薬理学的アゴニストである Yoda1 を単独投与すると  $[Ca^{2+}]_i$  は一過性に増加し、アンタゴニストである Dooku1 を同時投与すると  $[Ca^{2+}]_i$  増加は Yoda1 単独投与時よりも抑制された。直接機械刺激をヒト Merkel 細胞に行うと  $[Ca^{2+}]_i$  は一過性に増加し、その直接機械刺激誘発  $[Ca^{2+}]_i$  反応は、細胞外 5  $\mu$ M GsMTx4 の投与で可逆的に抑制された。Merkel 細胞の機械刺激受容において Piezo1 チャンネルが重要な役割を果たしていることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Functional expression of Piezo1 channel in human Merkel cells

○Kaneko R<sup>1,2</sup>, Ouchi T<sup>2</sup>, Kimura M<sup>2</sup>, Shibukawa Y<sup>2</sup>, Ichinohe T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup>Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

Merkel cells (MCs) form a part of the MC-neurite complex with sensory neurons. We previously reported that MCs are capable of detecting cellular deformation via activation of transient receptor potential vanilloid (TRPV) subfamily member-1, TRPV2, TRPV4 and TRP ankyrin subfamily member-1 channel in hamster. We also reported hamster MCs are capable of releasing glutamate in response to cellular deformation by direct mechanical stimulation, and released glutamate activates the NMDA receptors on rat trigeminal ganglion neurons. However, mechanoreceptive response in human MCs has not been reported yet. We, thus, investigated functional expression of Piezo1 channel in human MCs. We measured intracellular free  $Ca^{2+}$  concentration ( $[Ca^{2+}]_i$ ) by calcium fluorescence indicator (fura-2). We applied direct mechanical stimulation by a glass micropipette. Human MCs expressed cytokeratin 8, 14, 20, and Piezo1 channel by immunofluorescence staining. When we applied Yoda1, a pharmacological agonist of Piezo1 channel, to the MCs,  $[Ca^{2+}]_i$  was transiently increased. Yoda1 induced- $[Ca^{2+}]_i$  increase was suppressed by application of Dooku1, a pharmacological antagonist of Piezo1 channel. Transient increase of  $[Ca^{2+}]_i$  by direct stimulation was inhibited by an application of 5  $\mu$ M GsMTx4. These results suggested that Piezo1 may contribute to the reception of mechanical stimulation in human MCs.

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

---

## 1-PM34 三叉神経中脳路核の末梢ニューロンマーカー・イオンチャネル発現

---

○田上 聖章<sup>1</sup>, 黄地 健仁<sup>2</sup>, 木村 麻記<sup>2</sup>, 倉島 竜哉<sup>2</sup>, 石井 武展<sup>1</sup>, 中村 史朗<sup>3</sup>,  
井上 富雄<sup>3</sup>, 澁川 義幸<sup>2</sup>, 西井 康<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 矯正, <sup>2</sup>東歯大 生理, <sup>3</sup>昭大 歯 口腔生理

---

**【目的】** 歯根膜への機械的刺激は一次感覚ニューロンである三叉神経中脳路核と三叉神経節ニューロン終末によって受容される。歯根膜に矯正力による機械刺激を与えた際、歯根膜分布三叉神経節ニューロンに神経成長因子(NGF)が発現し順行性に三叉神経節ニューロンに輸送されることが報告されている(Gao et al., 2021)。一方で三叉神経中脳路核における機械受容と矯正力の関係について明らかではない。そこで矯正力による歯牙移動に伴う三叉神経中脳路核ニューロンの細胞膜タンパク質発現変化を検討するため、本ニューロンの単離を試みた。**【方法】** 生後15日齢のWistarラット(体重20g)を使用した。ラット脳幹部スライス標本を作製し三叉神経中脳路核をパンチアウトし酵素処理を行い、単一ニューロンを単離した。ニューロンは末梢ニューロンマーカータンパクであるbrain-specific homeobox/POU domain protein 3A (Brn3a), Peripherin, イオンチャネルであるTransient Receptor Potential Vanilloid 1チャネル, Piezo1チャネル, 神経ペプチドであるCGRPに対する一次抗体ならびに二次抗体を用いて免疫蛍光染色を行った。**【結果】** 免疫蛍光染色にて三叉神経中脳路核におけるBrn3a, Peripherin, Transient Receptor Potential Vanilloid 1チャネル, Piezo1チャネル, CGRPの発現が認められた。**【結論】** パンチアウトし単離された三叉神経中脳路核ニューロンは感覚ニューロンと示唆され, CGRPの発現がみられた。また歯根膜に矯正移動によるメカニカルストレスが負荷されると三叉神経中脳路核ニューロンのPiezo1, Transient Receptor Potential Vanilloid 1チャネルが活性化するであろうと示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Peripheral neuronal markers and ion channel expression in cells of trigeminal mesencephalic nucleus

---

○Tagami K<sup>1</sup>, Ouchi T<sup>2</sup>, Kimura M<sup>2</sup>, Kurashima Y<sup>2</sup>, Ishii T<sup>1</sup>, Nakamura S<sup>3</sup>, Inoue T<sup>3</sup>,  
Shibukawa Y<sup>2</sup>, Nishii Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Orthodont, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup>Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup>Dept Oral Physiol, Sch Dent, Showa Univ

---

Mechanical stimulation to the periodontal ligament is received by nerve endings of trigeminal mesencephalic nucleus and trigeminal ganglion which are primary sensory neurons. Recent studies have reported that nerve growth factor is expressed in periodontal ligament-distributed trigeminal ganglion neurons and anterogradely transported to trigeminal ganglion neurons during mechanical stimulation to the periodontal ligament by orthodontic force (Gao et al., 2021). The relationship between mechanoreception and orthodontic force in trigeminal mesencephalic nucleus has remained to be clarified, however. Therefore, we attempted to isolate neurons of trigeminal mesencephalic nucleus in order to examine altered expression of protein in plasma membrane of these neurons during orthodontic force-induced tooth movement. Single neurons were isolated from cells of trigeminal mesencephalic nucleus. Immunofluorescent staining using primary and secondary antibodies showed expression of Brn3a, Peripherin, TRPV1 channel, Piezo1 channel, and CGRP in cells of trigeminal mesencephalic nucleus. The results suggested that isolated cells of trigeminal mesencephalic nucleus were sensory neuron and mechanical stress on the periodontal ligament due to orthodontic movement might activate Piezo1 and TRPV1 channels in cells of trigeminal mesencephalic neurons.

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

---

## 1-PM35 光遺伝学的手法による島皮質および内側前頭前野から側坐核への異なる投射様式の解明

○廣瀬 健佑<sup>1,2</sup>, 中谷 有香<sup>2</sup>, 北野 晃平<sup>2</sup>, 山本 清文<sup>2</sup>, 白川 哲夫<sup>1</sup>, 小林 真之<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 小児歯, <sup>2</sup>日大 歯 薬理

報酬, 嗜癖などに対して重要な役割を果たす側坐核 (NAc) は, 約 95% が medium spiny neuron (MSN) から構成され, 数% がコリン作動性介在性ニューロン (ChN) である. NAc は, 島皮質 (IC) および内側前頭前野 (mPFC) からの投射を受けている. しかし, 各ニューロンに対する皮質からのシナプス入力特性については不明である. そこで, 我々は IC → NAc, mPFC → NAc について, GABA 作動性ニューロンに緑色蛍光タンパク質を発現し, コリン作動性ニューロンに赤色蛍光タンパク質を発現している遺伝子改変動物 (Venus × ChAT-tdTomato ラット) の IC および mPFC に AAV5-hSyn-ChR2 (H134R)-mCherry の懸濁液を微量注入した. 4-5 週間後に NAc を含む急性脳スライス標本を作製し, ChR2 を発現した IC → NAc および mPFC → NAc 投射線維を光刺激にて選択的に興奮させ, その時の応答をホールセル・パッチクランプ法にて記録した. その結果, MSN においては, IC および mPFC から同等の振幅を有する興奮性シナプス後電流 (pEPSC) が得られた. 一方, ChN においては mPFC からの投射による pEPSC が得られたが, IC からの投射によるものはほとんど認められなかった. また pEPSC は, 非選択的アセチルコリン受容体作動薬であるカルバコールにより有意に減弱し, ムスカリン M1 受容体選択的拮抗薬であるピレンゼピンによりカルバコールの作用は阻害された. さらに pEPSC は, ムスカリン M2 受容体のアロステリック調節因子であるガラミンおよび M3, M4, M2/M4 受容体に対する各々の選択的拮抗薬である J104129, PD102807, AF-DX384 を各々灌流投与した後においても, カルバコールは pEPSC を有意に減弱した. 以上の結果より, mPFC から ChN への興奮性入力により放出されたアセチルコリンは, MSN に発現する M1 受容体を介して, IC から NAc における MSN への興奮性入力を抑制している可能性が示唆された

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

## Differential synaptic function of projection from the insular and medial prefrontal cortices to the nucleus accumbens core revealed by optogenetic

○Hirose K<sup>1,2</sup>, Nakaya Y<sup>2</sup>, Kitano K<sup>2</sup>, Yamamoto K<sup>2</sup>, Shirakawa T<sup>1</sup>, Kobayashi M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Pediatr Dent Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Pharmacol Nihon Univ Sch Dent

The nucleus accumbens (NAc), which plays a key role in the information processing of rewards, contains medium spiny neurons (MSNs) and cholinergic interneurons (ChNs). MSNs make up approximately 95% of NAc neurons, and ChNs account for only a few percent of the NAc neuronal population. NAc receives cortical projections from the insular cortex (IC) and medial prefrontal cortex (mPFC). However, little is known about their synaptic mechanisms. Here, to investigate the synaptic properties of IC-NAc and mPFC-NAc connections, we injected AAV5-hSyn-ChR2 (H134R)-mCherry into the IC or mPFC of ChAT-tdTomato-VGAT-Venus rats, and 4-5 weeks after AAV injection, we performed whole-cell patch-clamp recordings from the NAc using optogenetics. As a result, light stimulation of IC or mPFC axons induced excitatory postsynaptic currents (EPSCs) in MSNs. On the other hand, ChNs showed consistent EPSCs evoked by light stimulation of mPFC axons, whereas light stimulation of IC axons evoked much smaller EPSCs. These EPSCs were suppressed by carbachol, and recovered by pirenzepine. Contrary, preapplication of gallamine, J104129, PD102807, or AF-DX384 did not block the carbachol-induced EPSC suppression. These results suggest the differential regulation of NAc MSN activities via ChNs between IC and mPFC.

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

---

## 1-PM36 チタン上の骨芽細胞は AMPK 活性促進によりオートファジーを介し骨形成を促進する

---

○江頭 敬<sup>1,2</sup>, 鍛冶屋 浩<sup>1,2</sup>, 河野 裕里<sup>1</sup>, 堤 貴司<sup>4</sup>, 大野 純<sup>1</sup>, 加倉 加恵<sup>2</sup>, 城戸 寛史<sup>2</sup>

<sup>1</sup>福歯大 口腔医学研究セ, <sup>2</sup>福歯大 咬合修復 口腔インプラント, <sup>3</sup>福歯大 細胞分子生物細胞生理, <sup>4</sup>福歯大 総合歯科 訪問歯科

---

**【目的】** AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) は, 細胞のエネルギー代謝の恒常性維持を担うとともに骨格系の代謝調節にも関与し, 現在糖尿病や骨粗鬆症の治療薬としても注目されている. そこで, 我々は, インプラント治療過程において, AMPK 活性促進効果は, チタン周囲骨の骨形成を促進し, 骨結合の早期で強固な獲得に有効ではないかと考えた. さらに, 現在骨分化・形成過程にはオートファジーの関与が示唆されている. そこで, AMPK 活性化促進によるチタン上で培養した骨芽細胞の骨分化・形成能についてプラスチック上と比較し, さらに, これら機序におけるオートファジーの関与性について調べた. **【材料と方法】** マウス骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1 細胞) をチタンプレート (φ55×1 mm; 商用純チタングレード 4) と 60 mm のディッシュ上で培養し, 骨分化誘導培地で分化誘導時の AICAR AMPK 活性促進剤の効果を評価した. 骨分化・形成の評価は定量性 RT-PCR 法, Western blotting 法, アルカリフォスファターゼ活性およびアリザリンレッド染色法を用いた. **【結果と考察】** チタンプレート上で MC3T3-E1 細胞の骨分化誘導時における増殖割合は AICAR 投与により影響はなかった. しかしながら, チタンプレート上における MC3T3-E1 細胞の骨分化誘導時の ALP 活性は AICAR 投与により 7 日目以降有意に増加し, 石灰化能は 14 日目以降に増加した. また, チタンプレート上での MC3T3-E1 細胞はプラスチックディッシュと比較し, AICAR 投与による AMPK リン酸化活性の増加がみられ, 引き続きオートファゴソーム形成に関与する LC3II が活性化された. 以上の結果より, チタン周囲の骨芽細胞は AMPK の活性化が有意に促進され, オートファジーを介して骨分化・形成能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.

---

## Osteoblasts treated with AMPK activator on titanium promote osteogenesis via autophagy

---

○Egashira K<sup>1,2</sup>, Kajiya H<sup>1,2</sup>, Kono Y<sup>1</sup>, Tsutsumi T<sup>4</sup>, Ohno J<sup>1</sup>, Kakura K<sup>2</sup>, Kido H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Oral Med Res Cent, <sup>2</sup>Dept Oral Rehabilit, Oral Implantol, <sup>3</sup>Physiological Sci and Molecular Biol, Cellular Physiol, <sup>4</sup>General Dent The Cent for Visiting Dent Service, Fukuoka Dent Coll

---

AMP-activated protein kinase (AMPK) is an important enzyme for cellular energy production, mitochondrial synthesis, and energy homeostasis, and has as a potential therapeutic agent for diabetes and osteoporosis. Thus, we hypothesize that the AMPK activation promotes osteogenesis in the peri-titanium bone during the implant therapy, resulting in early and strong osseointegration. Autophagy has recently been reported to involve in the osteoblast differentiation. Therefore, we examined that the effect of AMPK activator AICAR on osteogenesis on titanium compared to plastic dish, and the involvement of autophagy in the osteogenesis mechanism. MC3T3-E1 cells are cultured on a titanium and a plastic culture dish with or without AICAR in osteo-induced medium. We examined that the effect of AMPK activation on osteogenesis on titanium plate using qRT-PCR, Western blotting, ALP activity and alizarin red staining. Although AICAR had no effects on osteoblast proliferation in titanium ALP activity and calcium deposition were significantly increased after the 7th day and 14th day after AICAR stimulation. AICAR upregulated AMPK phosphorylation activity in osteoblasts on titanium compared to plastic dishes, and autophagy-related molecule LC3II was activated. The results suggest that the osteoblasts around titanium significantly promoted the activation of AMPK, promoted osteogenesis via the autophagy.

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

---



## 1-PM37 歯根膜幹細胞におけるメカノセンサー piezo1 チャンネルが介在する多様な分化方向

○河野 祐里<sup>1,2</sup>, 鍛冶屋 浩<sup>1,3</sup>, 江頭 敬<sup>1</sup>, 後藤加寿子<sup>1</sup>, 大野 純<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福歯大 口腔医学研究セ, <sup>2</sup>福歯大 成長発達 矯正, <sup>3</sup>福歯大 細胞分子生物 細胞生理

【目的】 Piezo1 はメカノセンサー (MS) として働く, 陽イオン透過性チャンネルである. 歯列矯正時において, 歯の移動に伴う歯周組織のリモデリングは MS により誘発され, その司令塔として働くのは歯根膜と考えられている. この歯根膜に存在する幹細胞は多分化能を有し, 歯周組織の骨芽細胞, セメント芽細胞及び歯根膜細胞へと分化してリモデリングを担うと考えられる. しかしながら, 歯の移動に伴う歯根膜組織へのメカニカルストレス (MS) のセンサーの発現とこの幹細胞の分化への方向づけに関しては未だ明らかではない. そこで, ヒト歯根幹細胞を用い, MS の発現とメカニカル刺激による分化誘導の相関について明らかにすることを目的とした. 【材料と方法】 ヒト不死化歯根膜幹細胞を以下の4つの条件で0~7日間培養し, 細胞を回収した. 1 コントロール 2 セメント芽細胞分化誘導因子 BMP-7 によるサイトカイン刺激 3 piezo1 アゴニストの Yoda1 による刺激 4 シリコンチャンバーで培養した細胞に伸展装置による持続的な牽引刺激これらの4条件の細胞における変化を定量性 RT-PCR 法, ウェスタンブロット法, 免疫染色法で評価した. 【結果と考察】 ヒト歯根膜幹細胞には, Piezo1 と Piezo2 の MS が発現していた. これらは, メカニカルストレスやサイトカイン刺激でも発現は変わらなかった. Yoda1 刺激によりと骨芽細胞とセメント芽細胞の分化誘導関連分子の発現が伴って増加した. また, 牽引刺激は piezo1 刺激による分化誘導発現パターンが部分的に類似した. セメント芽細胞への誘導刺激では, 総じてセメント芽細胞への分化方向に大きく傾く可能性が考えられた. これらより, 歯の移動時の牽引において歯根膜幹細胞における MS は骨芽細胞とセメント芽細胞の両方向に分化して歯周組織リモデリング効率を促進すると考えられた.

【利益相反】 利益相反状態にはありません.

## Mechanosensory Piezo1 induced multi-differentiation in human periodontal ligament stem cells

○Kono Y<sup>1,2</sup>, Kajiya H<sup>1,3</sup>, Egashira K<sup>1</sup>, Goto K<sup>1</sup>, Ohno J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Dept Oral Grow & Develop, Orthodon, Fukuoka Dent Coll, <sup>3</sup>Dept Physiol Scean & Mol Biol Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll

Piezo1 is a mechanosensors as cation-permeable ion channels. The remodeling of the periodontal tissue is induced by mechanosensors via the regulation of periodontal ligament (PDL) during orthodontic tooth therapy. The periodontal ligament stem cells (PDLSCs) have pluripotency and differentiate into osteoblasts, cementoblasts and PDL cells to play a role in remodeling. However, the little is known the expression of the mechanosensors and the differentiation direction in the PDLSC. We clarify the correlation between mechanosensors expression and differentiation induced by mechanical stimulation in human PDLSCs. The human PDL cells cultured in 4 conditions and examined the samples; (1) Control, (2) Cytokine stimulation with cementoblast differentiation inducing factor BMP-7, (3) Yoda1, a piezo1 agonist stimulation, (4) Cells cultured on a silicon chamber and continuous tension using a stretching device. PDLSCs expressed Piezo1 and Piezo2 as mechanosensors. Direct stimulation of Yoda1 increased the expression of associated molecules with osteoblast and cementoblast differentiation. The expression pattern of molecules stimulated with tension was partially similar when traction mechano-stress was applied. BMP-7 significantly may lead to cementoblasts. The results suggests that tension in PDLSCs is differentiated in both directions of osteoblasts and cementoblasts in during tooth movement and efficiently promotes periodontal tissue remodeling.

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

---

## 1-PM38 口内炎誘導性疼痛に対する Linalool 香気の鎮痛効果

---

○飯田 理人<sup>1,2</sup>, 人見 涼露<sup>2</sup>, 岩田 幸一<sup>2</sup>, 篠田 雅路<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 摂食機能, <sup>2</sup>日大 歯 生理

---

【目的】口内炎は口腔粘膜に潰瘍を形成し自発痛や接触痛を引き起こす。最近, Linalool 香気が足底部の炎症性疼痛を抑制することが報告されたが, 口内炎疼痛に対する鎮痛効果は不明である。本研究では, 口内炎疼痛に対する Linalool 香気の鎮痛効果を検討することを目的とした。【材料及び方法】麻酔下にて 50%酢酸を浸したろ紙を雄性 Wistar ラットの顎口腔前庭部に 30 秒間貼付し, 口内炎を作製した。アクリル製ボックスにラットを入れ, 1% Linalool (0.53 ppm) を 5 分間曝露させた。Linalool 曝露 30 分後, 覚醒下にて自発ラビング時間と, 口内炎部へのカプサイシン (CPS) 滴下後のラビング時間を計測した。また, von Frey 毛を用いた口内炎部への機械刺激に対する逃避閾値 (MHWT) を測定した。さらに, 起炎物質である complete Freund's adjuvant (CFA) を足底部に投与した 2 日後に, Linalool 曝露 30 分後の足底部 MHWT を計測した。Linalool 曝露による運動機能への影響は Rota-Rod 試験にて評価した。三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) ニューロンにおける extracellular signal-regulated kinase (ERK) リン酸化を免疫組織化学的に解析した。

【成績及び考察】口内炎モデルにおいて自発ラビング時間と CPS 誘発ラビング時間が延長し, 口内炎部の MHWT が低下した。これらの変化は Linalool 曝露によって抑制された。また Linalool 曝露は運動機能に影響しなかった。CFA の足底部投与による足底部 MHWT の低下は, Linalool 曝露により抑制された。また, Vc におけるリン酸化 ERK 陽性ニューロン数は Linalool 曝露によって減少した。以上より, Linalool 曝露は Vc ニューロンの興奮性増大抑制を介して口内炎疼痛および足底部炎症性疼痛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。

---

## Analgesic effect of Linalool odor on Oral ulcerative mucositis pain

---

○Iida M<sup>1,2</sup>, Hitomi S<sup>2</sup>, Iwata K<sup>2</sup>, Shinoda M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Dysphagia Rehabil, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent

---

Oral ulcerative mucositis (OUM) induces severe pain, resulting in low quality of life. Recently, Linalool odor exposure have been reported to suppress inflammatory pain in the hind paw. However, the analgesic effect of Linalool odor on orofacial pain was unclear. Here, to examine whether Linalool odor ameliorates OUM-induced pain, we investigated the effect of Linalool odor on the pain using behavioral and immunohistochemical analyses in the OUM model rats. OUM was developed by treatment with acetic acid in the attached gingiva of the inferior incisors. 1% Linalool was exposed before behavioral analysis. Compared with naive rats, the spontaneous and the capsaicin-induced rubbing time were prolonged, and the mechanical head-withdrawal threshold in the oral mucosa was decreased in the OUM model rats. These nocifensive behaviors were suppressed by Linalool odor exposure without affecting motor function. Decrease of mechanical withdrawal threshold in the hind paw following complete Freund's adjuvant injection was also recovered to naive level by Linalool odor exposure. In the OUM model, the number of phosphorylated extracellular signal-regulated kinase-immunoreactive neurons in trigeminal spinal nucleus caudalis (Vc) was reduced by Linalool exposure. These results suggest that Linalool odor ameliorates OUM-induced spontaneous, mechanical, and chemical pain by the suppression of Vc neuronal hyperexcitability.

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

---

---

## 1-PM39 象牙芽細胞におけるリガンド依存性石灰化駆動

---

○齋藤 菜月<sup>1</sup>, 黄地 健仁<sup>3</sup>, 木村 麻記<sup>3</sup>, 倉島 竜哉<sup>3</sup>, 一戸 達也<sup>2</sup>, 澁川 義幸<sup>3</sup>

<sup>1</sup>東京大 医病院 麻酔科・痛みセ, <sup>2</sup>東歯大 麻酔, <sup>3</sup>東歯大 生理

---

象牙芽細胞は神経堤に発生起源をもつ象牙質形成細胞である。象牙芽細胞に加えられた刺激は、生理的および防御機転として生涯にわたり象牙質形成を促進するとされているが、その詳細な機序は明らかにされていない。以前我々は細胞内 cAMP レベルが  $Ca^{2+}$  シグナルを調節することを示しており、象牙芽細胞内 cAMP レベルが石灰化駆動を調節する可能性が示唆される。そこで本研究は、象牙芽細胞における cAMP シグナルによる象牙質形成機序を検討した。新生仔ラットから象牙芽細胞を急性単離した。象牙芽細胞に cAMP sensor を加え、細胞内 cAMP レベルを測定した。また急性単離した象牙芽細胞を石灰化誘導培地で培養し、石灰化能を評価した。加えて急性単離した象牙芽細胞の免疫蛍光染色を行った。象牙芽細胞は抗  $G_s$  タンパク質共役型受容体抗体、パラトルモン (PTH) 受容体抗体、calcitonin gene-related peptide (CGRP) 受容体抗体に陽性を示した。 $G_s$  タンパク質共役型受容体である PTH 受容体、CGRP 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。PTH 受容体を活性化するとコントロール群と比較して石灰化は有意に亢進したが、CGRP 受容体を活性化するとコントロール群と比較して石灰化は有意に抑制された。象牙芽細胞において  $G_s$  タンパク質共役型受容体が発現し、パラトルモン受容体、CGRP 受容体の活性化は  $G_s$  タンパク質共役型受容体活性化を通して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。異なるリガンドの  $G_s$  タンパク質共役型受容体活性化による細胞内 cAMP を介した象牙質形成機序が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Ligands-dependent mineralization through $G_s$ protein-coupled receptor-ligand axes in odontoblasts

---

○Saito N<sup>1</sup>, Ouchi T<sup>3</sup>, Kimura M<sup>3</sup>, Kurashima R<sup>3</sup>, Ichinohe T<sup>2</sup>, Shibukawa Y<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Anesthesiol and Pain Relief Cent, The Univ Tokyo Hosp, <sup>2</sup>Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup>Dept Physiol, Tokyo Dent Coll

---

In the  $G_s$  protein-coupled receptor and its ligand axes, detailed intracellular cAMP signaling pathway in odontoblasts and its role for cellular function have remained to be clarified. In this study, we measured intracellular cAMP level, and evaluated mineralization efficiency in odontoblasts. Intracellular cAMP level was measured by mNeon Green-based cAMP sensor. In the presence of extracellular  $Ca^{2+}$ , application of PTH receptor and CGRP receptor agonists increased intracellular cAMP level in odontoblasts. The increases were significantly inhibited by application of each selective receptor antagonist and an adenylyl cyclase inhibitor. PTH receptor agonist promoted mineralization of odontoblasts, while CGRP receptor agonist suppressed the mineralization. These results suggested CGRP/PTH receptor expression in odontoblasts. These receptors activation increased intracellular cAMP level by activation of adenylyl cyclase. In addition, mineralization efficiency by activation of  $G_s$  protein-coupled receptors depends on their ligands in odontoblasts.

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

---

## 1-PM40 *Wasabi sulfinyl* 誘導体ヘキサラファンはヒト象牙芽細胞の石灰化を促進する

○古澤 誉彰<sup>1,2</sup>, 木村 麻記<sup>2</sup>, 黄地 健仁<sup>2</sup>, 中島 克真<sup>1,2</sup>, 杉田 誠<sup>3</sup>, 奥西 勲<sup>4</sup>, 澁川 義幸<sup>2</sup>, 古澤 成博<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 歯内, <sup>2</sup>東歯大 生理, <sup>3</sup>広大院医 口腔生理, <sup>4</sup>金印株式会社

ワサビ (*E. japonicum*) の主成分であるヘキサラファン (6-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate : 6-MSITC) を含む9種類の類似化合物に着目し, その構造と象牙質石灰化促進能との関連およびそのメカニズムを明らかにすることを目的とした。ヒト培養象牙芽細胞 (HDP) に対し, ヘキサラファンと類似した構造をもつ allyl isothiocyanate (AITC), 4-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate (4-MSITC), 8-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate (8-MSITC), phenethyl isothiocyanate (PEITC), 4-(methylsulfinyl)-1-butylamine (4-MS amine), 6-methylsulfonylhexyl isothiocyanate (6-MSFITC), 6-methylthiohexyl isothiocyanate (6-MTITC), n-hexyl isothiocyanate (n-Hexyl ITC) を投与した際の石灰化能を  $\text{HCO}_3^-$  と  $\text{Ca}^{2+}$  輸送との関連で検討した。ヘキサラファンは  $40 \mu\text{M}$  以上で有意な石灰化促進を示し, AITC は  $0.1 \mu\text{M}$  以上で有意に石灰化抑制を示した。その他7種類の類似化合物の投与は,  $50 \mu\text{M}$  では4-MS amine, 6-MSFITC, 8-MSITC, ヘキサラファンが,  $400\text{--}500 \mu\text{M}$  ではヘキサラファン, PEITC が有意に石灰化を促進した。加えて, ヘキサラファンを投与した培地の pH は有意に上昇を示したことから細胞内  $\text{HCO}_3^-$  との関連を調べた。ヘキサラファンと炭酸脱水素酵素阻害薬の dorzolamide (DZ) を同時投与すると, ヘキサラファン単独に比べ有意な石灰化抑制がみられた。 $\text{Ca}^{2+}$  輸送と石灰化の関連を調べるため, ヘキサラファン, DZ に加え  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger 阻害薬である KB-R9743 および plasma membrane  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase (PMCA) 阻害薬の caloxin を投与した結果, ヘキサラファンと DZ, caloxin の同時投与で有意な石灰化抑制がみられた。ヘキサラファンによる石灰化促進には  $\text{HCO}_3^-$  および  $\text{Ca}^{2+}$  輸送が関与している可能性が示唆された。会員外共同研究者: 加藤朋恵 (金印株式会社)

**【利益相反】** 利益相反状態にあります。

## *Wasabi sulfinyl* derivative hexaraphane promotes mineralization efficiency of human odontoblasts

○Furusawa Y<sup>1,2</sup>, Kimura M<sup>2</sup>, Ouchi T<sup>2</sup>, Nakajima K<sup>1,2</sup>, Sugita M<sup>3</sup>, Okunishi I<sup>4</sup>, Shibukawa Y<sup>2</sup>, Furusawa M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tokyo Dent Coll Dept. Endod, <sup>2</sup>Tokyo Dent Coll Dept Physiol, <sup>3</sup>Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci, Dept Physiol Oral Physiol, <sup>4</sup>Kinjirushi Co, Ltd

To clarify relationship between their chemical structure and mineralization-promoting ability of composition of wasabi (*E. japonicum*), we focused on nine types of their similar compounds, including hexaraphane (6-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate : 6-MSITC). Hexaraphane significantly increased mineralization efficiency over the concentration of  $40 \mu\text{M}$ . Administration of hexaraphane to odontoblast culture medium showed significant increase in the medium pH. To confirm the relationship between increase in mineralization efficiency and  $\text{HCO}_3^-$  and  $\text{Ca}^{2+}$  transport, we administered dorzolamide (a carbonic anhydrase inhibitor), KB-R7943 (a  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger inhibitor), and caloxin (a plasma membrane  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase (PMCA) inhibitor) to odontoblasts culture medium. Simultaneous application of hexaraphane with dorzolamide, as well as hexaraphane with dorzolamide and caloxin to the culture medium significantly reduced mineralization efficiency, compared to hexaraphane application without them. These results suggested that the transmembrane  $\text{HCO}_3^-$  and  $\text{Ca}^{2+}$  transport involved in the promotion of mineralization efficiency induced by composition of wasabi, including hexaraphane. Non-member collaborator : Tomoe Kato-Yamada (Kinjirushi Co., Ltd)

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest.



---

## 1-PM41 間葉系幹細胞関連プロテオグリカンの象牙質再生における役割

---

○中島 克真<sup>1,2</sup>, 黄地 健仁<sup>2</sup>, 木村 麻記<sup>2</sup>, 古澤 誉彰<sup>1,2</sup>, 澁川 義幸<sup>2</sup>, 古澤 成博<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 歯内, <sup>2</sup>東歯大 生理

**【目的】**象牙芽細胞は、神経堤に由来する象牙質形成細胞で発生学的な象牙質のみならず、機械受容特性で生じる反応象牙質を形成する。また、歯髄象牙質障害に伴う象牙芽細胞死が生じると、修復象牙質が形成される。近年、象牙芽細胞死を人為的に誘導すると、外的因子にかかわらず象牙芽細胞が再生し、修復象牙質が形成されることが示された。しかしながら、象牙芽細胞再生の由来細胞は同定されず、未知のまま残されている。一方、象牙芽細胞直下に存在する血管周皮細胞 (Pericyte) が、象牙芽細胞にターンオーバーすることで、修復象牙質が形成されることが報告されているが、その詳細な細胞の nature はいまだ明らかにされていない。Pericyte はプロテオグリカン (PG) である NG2 に陽性を示すことが知られている。そこで、本研究では Pericyte が修復象牙質形成促進細胞の由来細胞か否か、また修復象牙質形成の必要因子かを同定することを目的とした。

**【方法】**マウス象牙芽細胞系細胞 (OLC) を 24 時間培養し、培養後免疫蛍光染色を行うため固定、膜透過処理、ブロッッキング処理を行い、1 次抗体を加え 4℃ にて 7~8 時間反応させた。その後、2 次抗体を加え室温暗所で 1 時間反応させた。細胞は対比染色 (DAPI) を行い蛍光顕微鏡で観察した。また同条件下で OLC を 24 時間培養後、14 日間石灰化誘導を行い、石灰化能を Alizarin red 及び von Kossa 染色で評価した。

**【結果】**OLC は Pericyte のマーカーの NG2, 間葉系幹細胞マーカーの CD44, 象牙芽細胞マーカーの DSPP に対しそれぞれ陽性反応を示した。OLC の石灰化能は、Alizarin red 及び von Kossa 染色で確認した。

**【考察】**NG2 と CD44 はカルシウムの保持や集積に関わる PG の一種として知られている。歯髄 Pericyte は間葉系幹細胞に発生の起源をもつとされており、本研究の結果から、PG と間葉系幹細胞は象牙質形成に重要な役割を担っている可能性が示唆された。

**【利益相反】**利益相反状態にはありません。

---

## Mesenchymal stem cells-relating proteoglycans play important roles in dentin regeneration

---

○Nakajima K<sup>1,2</sup>, Ouchi T<sup>2</sup>, Kimura M<sup>2</sup>, Furusawa Y<sup>1,2</sup>, Shibukawa Y<sup>2</sup>, Furusawa M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tokyo Dent Coll Dept Endod, <sup>2</sup>Tokyo Dent Coll Dept Physiol

**Purpose:** Odontoblasts form dentin during not only developmental but also regenerative processes. Although recent study has suggested that pericytes locating sub-odontoblastic region may differentiate into odontoblast-like cells to form reparative dentin as a result from odontoblast cell death due to pulpal injury, the detailed nature of odontoblast renewal has not yet been clarified. In this study, we aimed to reveal whether pericyte is a source of reparative dentin promoting cells or not, and to identify factors which are essential for reparative dentin formation.

**Methods:** Mouse odontoblast-lineage cells (OLCs) were cultured for 24h for immunofluorescence staining. Immunofluorescence was observed by fluorescence microscope. We also demonstrated mineralization assay by Alizarin red and von Kossa staining in order to evaluate mineralization capacity. **Results:** OLCs were positive for pericyte marker, NG2, and mesenchymal stem cell marker, CD44. OLCs were also positive for one of odontoblast markers, DSPP. Mineralization capacity of OLCs were confirmed by Alizarin red and von Kossa staining. **Discussion:** NG2 and CD44 are known as proteoglycans involving in calcium retention and accumulation. The results suggested that proteoglycans and mesenchymal stem cells may play an important role in dentin regeneration.

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

---

---

## 1-PM42 血管内皮細胞における CGRP 受容体の発現と受容体活性化による細胞内 cAMP レベルの動態解析

---

○岩崎 亮<sup>1</sup>, 黄地 健仁<sup>2</sup>, 西山 明宏<sup>1</sup>, 木村 麻記<sup>2</sup>, 黒田 英孝<sup>3</sup>, 澁川 義幸<sup>2</sup>,  
片倉 朗<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 口腔病態外, <sup>2</sup>東歯大 生理, <sup>3</sup>神歯大 院歯 歯科麻酔

---

【目的】 歯髄炎症反応は、神経終末から血管内皮細胞や歯髄細胞へと神経ペプチドが放出される（軸索反射）神経原性炎症である。しかし歯髄において神経原性炎症が生じる詳細なメカニズムは不明なまま残されている。そこでラット脳微小血管内皮細胞（RBMEC）をモデルとして、神経ペプチドである CGRP に対する受容体発現を検討し、歯髄軸索反射の発生メカニズムを解明することを目的とした。【方法】 血管内皮細胞はラット脳微小血管内皮細胞（Rat Brain Microvascular Endothelial Cells）を継代培養することで得られた。mNeon green cAMP sensor を加え、細胞内 cAMP 濃度を蛍光強度として記録した。また Wistar ラット（7 日齢）より三叉神経節を急性単離し、L-15 培地で 24~48 時間初代培養した。両細胞に対して免疫蛍光染色を行った。【結果】 アデニル酸シクラーゼの活性化薬である forskolin (FSK) を単独投与すると、RBMEC の細胞内 cAMP レベルは一過性に増加し、phosphodiesterase 阻害薬である IBMX 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。CGRP 受容体アゴニストである CGRP を投与すると、細胞内 cAMP レベルは増加した。その増加は CGRP 受容体阻害薬の BIBN4096 の投与で有意に抑制された。また、アデニル酸シクラーゼ阻害薬である SQ22536 と CGRP を同時投与すると CGRP 誘発細胞内 cAMP レベル増加は有意に抑制された。免疫蛍光染色で RBMEC は、抗 G<sub>s</sub> タンパク質共役型受容体抗体、抗 CGRP 受容体抗体、抗 eNOS 抗体に免疫陽性を示した。また CGRP 投与後に pCREB の発現が有意に増加した。三叉神経節ニューロンは抗 Piezo1 抗体、抗 TRPV1 抗体、抗 CGRP 抗体に免疫陽性を示した。【考察】 血管内皮細胞は G<sub>s</sub> タンパク質共役型受容体である CGRP 受容体に免疫陽性であり、その活性化はアデニル酸シクラーゼ活性化による細胞内 cAMP レベルをもたらすことが示唆された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Functional expression of CGRP receptor and dynamics of intracellular cAMP levels by the receptor activation in vascular endothelial cells

---

○Iwasaki A<sup>1</sup>, Ouchi T<sup>2</sup>, Nishiyama A<sup>1</sup>, Kimura M<sup>2</sup>, Kuroda H<sup>3</sup>, Shibukawa Y<sup>2</sup>, Katakura A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Pathobiol Sci Surg, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup>Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup>Dept Dent Anesthesiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

---

Dental pulp inflammatory response is caused by neurogenic inflammation in which neuropeptides are released from nerve endings to pulpal tissue (axonal reflex). We investigated functional expression patterns of receptors for neuropeptide CGRP and attempted to clarify the mechanism of dental pulp axonal reflex. We cultured brain microvascular endothelium derived vascular endothelial cells (RBMECs), and measured intracellular cAMP levels. We also cultured trigeminal ganglion (TG) cells isolated from neonatal Wistar rats (7 days old). We used both cells for immunofluorescence staining. When we applied activator for adenylyl cyclase, forskolin (FSK), intracellular cAMP level increased. FSK induced-cAMP levels were augmented by application of phosphodiesterase inhibitor. We applied CGRP to the RBMEC, the intracellular cAMP level transiently increased. CGRP induced-cAMP increases were inhibited by application of CGRP receptor antagonist. The increases were significantly suppressed by application of an adenylyl cyclase inhibitor. RBMECs were immunofluorescence positive for G<sub>s</sub> protein coupled CGRP receptor and endothelial nitric oxide synthase. The expression of phosphorylated CREB, was significantly increased after CGRP application. Trigeminal ganglion neurons were positive for Piezo1, TRPV1, and CGRP. These results suggest that intracellular cAMP production were activated by adenylate cyclase activation in RBMECs.

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

---

---

## 1-PM11 鼻中隔発生における Gata3 の役割

---

○サハ ミトン, 黒坂 寛, 犬伏 俊博, 山城 隆  
阪大 院歯 矯正

---

### Tissue and stage-specific role of Gata3 in embryonic craniofacial development

---

○Saha M, Kurosaka H, Inubushi T, Yamashiro T

Dept Orthodont, Grad Sch Dent, Osaka Univ

---

(Introduction) Nasal septum development depends upon orchestrating the development of the cranial neural crest and cranial ectoderm cells. This process includes several molecular, mechanical, and morphological steps involving cartilage formation and vertical growth of the nasal septum before the fusion of the secondary palate. However, detailed molecular and cellular process of nasal septum development is still largely elusive. Gata3 is one of the important molecules for developing various organs. In present study, we have investigated the role of Gata3 during embryonic nasal septum developing by using multiple genetic models. (Objectives) Uncover the role of Gata3 throughout nasal septum development. (Methods) In situ hybridization, and immunohistochemistry was performed using an antisense probe and antibody against Gata3. We also performed morphological and histological analysis of Wnt1Cre +/-Gata3fx/fx and tamoxifen-inducible ubiquitous Gata3 knock-out mice (ERT2Cre; Gata3fx/fx). (Results) Impregnable expression of Gata3 could be distinguished in developing craniofacial areas, particularly in growing the primary palate, which includes most cells for developing the nasal septum. Interestingly, when Gata3 was eliminated in the early embryonic stage (E11.5, 12.5), the knock-out mouse had nasal septum deformity. On the top, disturbed cell proliferation and death in the developing nasal septum could be surveilled in these mutants. (Conclusions) Consequences indicated vital roles of Gata3 during nasal septum development by synchronizing cellular behaviors. We also accomplished a comprehensive gene expression analysis of Gata3 mutant and nominated possible novel downstream gene which works in craniofacial development and would like to deliberate future directions.

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

---

---

## 1-PMI2 p130cas はマウス顎下腺の顆粒性導管細胞分化のための ER-ゴルジネットワークの形成に重要な役割を果たす

---

○李 傲男<sup>1</sup>, 高 靖<sup>1</sup>, 藤井 慎介<sup>2,3</sup>, 清島 保<sup>2</sup>, 自見英治郎<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔細胞工学, <sup>2</sup>九大 院歯 口腔病理, <sup>3</sup>九大 院歯 DDRセ, <sup>4</sup>九大 院歯 OBTセ

---

### p130cas plays a crucial role in ER-Golgi network formation for cell differentiation of granular convoluted tubules in mouse submandibular glands

---

○Li AN<sup>1</sup>, Gao J<sup>1</sup>, Fujii S<sup>2,3</sup>, Kiyoshima T<sup>2</sup>, Jimi E<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>DDR Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>4</sup>OBT 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 essential for the formation of ruffled border involved in the secretion of acids and proteolytic enzyme rather than osteoclast formation. 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 the function of salivary gland, such as salivary secretion. In this study, we generated epithelial tissue-specific p130Cas-deficient (p130CascKO) mice using Keratin14-Cre mice and investigated the physiological role of p130Cas in salivary gland development. The submandibular glands of 6-week-old wild-type (WT) and p130CascKO 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, EGF, Rab3D, GM-130, KDEL and calnexin. Serum testosterone level was measured by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The size and weight of submandibular glands (SMG) of p130CascKO mice were lower than those of WT mice. The saliva secretion and the amount of amylase in saliva were decreased only in male p130CascKO. Histological analysis showed immature development of the granular convoluted tubule of the submandibular glands in male p130CascKO mice. There was no difference in the serum testosterone level. Furthermore, immunofluorescence staining of EGF showed that the secretory granules contained in the granular convoluted ductal epithelial cells were significantly reduced in the p130CascKO mice. A small GTPase Rab3D which regulate the maturation of post-trans-Golgi network vesicles localized in secretory vesicles in WT mice; however, Rab3D-positive vesicles were dramatically decreased in p130CascKO mice. Deficiency of p130Cas led to the disturbed intracellular localization of the cis-Golgi matrix protein GM130 and decreased expression of ER makers, such as KDEL and calnexin. These results suggested that p130Cas plays a crucial role in granular convoluted ductal cell differentiation in SMG by regulating the formation of ER-Golgi network.

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

---



---

## 1-PMI3 テストステロンシグナルはミクログリアにおけるオートファジーを増強する

---

○杜 海妍<sup>1</sup>, 溝上 顕子<sup>2</sup>, 兼松 隆<sup>1</sup>, 佐野 朋美<sup>1</sup>, 山脇 洋輔<sup>3</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能分子, <sup>2</sup>九大 院歯 口腔脳機能病態, <sup>3</sup>第一薬科大 先端薬理

---

### Testosterone signaling enhances autophagic activity in microglia

---

○Du H<sup>1</sup>, Mizokami A<sup>2</sup>, Kanematsu T<sup>1</sup>, Sano T<sup>1</sup>, Yamawaki Y<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Cell Biol Aging Sci, & Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>OBT Res Cent, Fac Dent, Kyushu Univ, <sup>3</sup>Lab Adv Pharmacol, Daiichi Univ Pharm

---

[Purpose] Epidemiological studies have showed that women are more prevalent to Alzheimer's disease (AD) than men, but the cause of this phenomenon and underlying mechanisms are still unclear. Potential role of testosterone is implicated in the progression of amyloid pathology in AD, as low plasma testosterone, the major sex hormone in males, is reported to be associated with increased risk of AD in men. Microglia, primary innate immune cells in the brain, play a key role in AD by releasing inflammatory cytokines and degrading aggregated amyloid &Beta (A&Beta) via autophagy. Recent studies show that microglial characteristics are dependent on sex, suggesting their involvement in sexually differential AD susceptibility. In this study, we focused on testosterone signaling in microglia and investigated the roles of testosterone in the regulation of autophagic activity. [Materials & Methods] Mouse microglial cell line MG6 was used. Autophagic flux was assessed by immunoblotting and fluorescence microscopy, using phosphatidylethanolamine-conjugated microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3-II) or p62 that mediates the degradation of ubiquitinated proteins by selective autophagy as indicators. [Results & Conclusion] GPRC6A, a G protein-coupled receptor, serves as a testosterone receptor, responsible for its rapid non-genomic action. We confirmed that GPRC6A but not nuclear androgen receptor is expressed in MG6 cells, indicating that testosterone signaling in MG6 is mainly mediated by GPRC6A. We found that testosterone stimulation suppressed the phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase (ERK) in MG6 cells, which in turn suppressed mTOR activation and promoted autophagy. Stimulation of MG6 cells with A&Beta also induced autophagy. Extracellular A&Beta was observed inside the cells and colocalized with an autophagosome marker LC3. Colocalized LC3 dots indicative of autophagic vacuoles were increased in the co-stimulation with A&Beta and testosterone. These results indicate that testosterone-GPRC6A signaling enhances A&Beta-induced autophagy in microglia and thus may play a crucial role in men's low AD susceptibility.

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

---

---

## 2-PG1 局所麻酔薬の学生実習項目をコンピューターシミュレーションで行うためのモデル式構築

---

○荒 敏昭<sup>1</sup>, 十川 紀夫<sup>2</sup>

<sup>1</sup>松歯大 薬理, <sup>2</sup>松歯大 総歯研

---

【目的】動物愛護の観点などから実験動物の使用数を削減することが望まれており、実験動物代替法としてシミュレーター（薬物動態，循環器作用薬）が学生実習で使用されている。今回我々は、本学学生実習で行っている局所麻酔薬の項目の代替法を開発することを目的として、コンピューターシミュレーションを行うためのモデル式を構築した。さらに、推定されたパラメータ値を使用して実習結果の予測が可能かどうかを検討した。

【方法】剃毛したモルモット背部に局所麻酔薬を皮下注射した後に注射部位を一定時間ごとに刺激針で6回刺激し、皮膚収縮を起こした回数をスコア値とした。解析用のデータとして2019年度および2021年度の実習結果を使用した（計35匹）。薬物適用からの経過時間、局所麻酔薬の種類、アドレナリン添加の有無、推定されたパラメータ値から、皮膚収縮を起こす確率を求め、二項分布によって収縮回数（スコア値）を予測するモデル式を作成した。階層ベイズ法を使用し、ハミルトニアンモンテカルロ（HMC）法によって各パラメータ値を推定した。さらに、新たなパラメータ値を乱数で作成し、各時間におけるスコア値を算出することで実習のシミュレーションを行った。

【結果】推定されたパラメータ値をもとにスコア値の予測曲線を作成したところ、多くの場合に実習データに当てはめることができた。また、推定された値をもとに作成したパラメータ値を用いてスコア値を予測したところ、スコア値が上下に変動しながら増加していく様子が観察された。

【考察】シミュレーションによるスコア値の変動は学生実習データにおいても観察されるため、今回のモデル式およびパラメータ値を使用することで実習結果のシミュレーションを行うことが可能であることが示された。しかし動物代替法は「リアリティーに欠ける」などの欠点を有するため、実際の操作の動画を学生に見せるなどの工夫が必要である。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### The construction of model formula for computer simulation of student training (local anesthesia)

---

○Ara T<sup>1</sup>, Sogawa N<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

---

For alternatives to animal experiments, computer simulations are used in some areas such as pharmacokinetics or cardiovascular agents. For this purpose, we constructed the model formula for computer simulation of local anesthesia at student training. Moreover, we estimated the parameters for drugs in this model, and predicted the results using the estimated parameters.

After subcutaneous injection of local anesthesia in back of shaved guinea pig, the injected sites were stimulated 6 times with needle at regular intervals, and the number of reactions (score value) was measured. In this model, the probability of reacting against needle stimulation was calculated from elapsed time, kind of local anesthesia, and the presence or absence of adrenaline, and score values were predicted by binomial distribution at the probability. The parameters were estimated by hierarchical Bayesian model and Hamiltonian Monte Carlo (HMC) method. Moreover, score values at each time were predicted using new parameters according to the estimated parameters.

The predicted curves made from estimated parameters were well fitted to the training data. And, the score values predicted from new parameters increased as time proceeds.

From these results, this model is useful to simulate the effect of local anesthesia at the student training.

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

---

---

## 2-PG2 上皮ケラチノサイトのフェノタイプ変化における転写因子 SOX4 の役割

---

○長岡 良礼, 武石 幸容, 八田 光世

福歯大 細胞分子生物 分子機能

---

SOX4 は SOX (Sry-related high-mobility group box) ファミリーに属する転写因子であり, 上皮系細胞の癌化および, 浸潤・転移の促進への関与が知られている. しかしながら上皮ケラチノサイトにおける SOX4 の役割の詳細は不明である. 本研究では, ヒト不死化ケラチノサイト細胞株 (HaCaT) のフェノタイプ変化や機能制御に, 転写因子 SOX4 がどのように関与しているか検討した. まず Doxycycline (Dox) 存在下で SOX4 の発現誘導をする SOX4 過剰発現細胞株 (Tet on SOX4 HaCaT) を作製した. 顕微鏡観察から, Dox 処理により細胞間接着が減弱し, 突起を持つ形態に変化することがわかった. さらに Phalloidin 染色により, 線維状アクチン束による糸状の細胞膜伸展 (フィロポディア) が増加することを確認した. 次に上皮細胞のフェノタイプに関与する因子群の発現を qRT-PCR, ウェスタンブロットにて解析した. 上皮系マーカー (KRT13, CLDN1) の発現減少, 間葉系マーカー (Vim, FN1) の発現増加, 上皮間葉転換 (EMT) 関連転写因子である TWIST1 の発現の増加が認められた. これらの結果から, 遺伝子のプロファイルが大きく変化している可能性が考えられ, RNA-シーケンスにより網羅的に解析した. 発現変動遺伝子群について, 遺伝子クラスタリング解析, Gene Ontology 解析を行ったところ, Tet on SOX4 HaCaT の Dox 処理群ではアクチン繊維の形成, アクチン骨格制御といった細胞骨格に関わる遺伝子群の発現増加が認められた. 以上の結果から, SOX4 が上皮ケラチノサイトの EMT 様のフェノタイプ変化や細胞骨格変化を誘導することが示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

## Regulation of phenotypic changes in epithelial keratinocytes by the transcription factor SOX4

---

○Nagaoka Y, Takeishi Y, Hatta M

Div Cell Mol Regul, Fukuoka Dent Coll

---

SOX4 is a member of the SOX (Sry-related high-mobility group box) family of transcription factors and is known to be involved in the promotion of epithelial cell tumorigenesis, invasion, and metastasis. However, the role of SOX4 in epithelial keratinocytes is unclear. In this study, we investigated the involvement of SOX4 in the phenotypic changes and functional regulation of a human keratinocyte cell line (HaCaT). We generated a SOX4 overexpressing cell line (Tet on SOX4 HaCaT) in which SOX4 expression is induced in the presence of doxycycline (Dox). Dox treatment impaired intercellular contact and altered the cells to exhibit a protruding morphology. Moreover, phalloidin staining revealed an increase in filopodia-like structures. qRT-PCR and western blotting revealed that SOX4 decreased the expression of epithelial markers (KRT13, CLDN1) and increased the expression of mesenchymal markers (Vim, FN1) and TWIST1, a transcription factor related to epithelial-mesenchymal transition (EMT). Because the gene profiles may have been significantly altered, we performed comprehensive RNA sequencing analysis. Gene clustering and gene ontology analyses of differentially expressed genes revealed that Dox treatment of Tet on SOX4 HaCaT increased the expression of genes related to the cytoskeleton. These findings indicate that SOX4 induces EMT-like cytoskeletal changes in epithelial keratinocytes.

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

---

---

## 2-PG3 リドカイン塩酸塩水和物における抗酸化作用の検討

---

○黒田 英孝<sup>1</sup>, 吉田 彩佳<sup>2</sup>, 吉野 文彦<sup>3</sup>

<sup>1</sup>神歯大 歯 歯科麻酔, <sup>2</sup>神歯大 歯 総合歯学教育 歯学教育, <sup>3</sup>神歯大 歯 総合生体機能 歯科薬理

---

局所麻酔薬は歯科だけでなく医療全体で頻用される薬剤の1つであり、近年、局所麻酔薬と酸化ストレスとの関連が注目されている。炎症性疾患の発生や増悪に活性酸素種 (Reactive Oxygen Species: ROS) が関与することが知られている。歯科の対象とする疾患の多くは炎症性疾患であり、その治療には鎮痛を目的に局所麻酔薬を用いる。局所麻酔薬が抗炎症作用を有していれば、より良好な患者予後を獲得できる可能性があるが、これまで局所麻酔薬が抗酸化作用を有するかは明らかにされていない。そこで、局所麻酔薬のリドカイン塩酸塩水和物が ROS を消去すると仮説を立て実験を行った。

ROS を特異的に測定できる電子スピン共鳴法を用いて、 $H_2O_2$ +紫外線 (UV) 系によりヒドロキシルラジカル ( $HO^\cdot$ ) を、 $TiO_2 + H_2O_2 + UV$  系によりスーパーオキシド ( $O_2^{\cdot-}$ ) を生成させ測定した。コントロールに蒸留水 (DDW) を用いて、この生成系にリドカイン塩酸塩水和物 (0.002, 0.02, 0.2, 2 w/v%) を添加し抗酸化作用を測定した。結果は Logistic 関数を用いて fitting を行い、50% 阻害濃度 ( $IC_{50}$ ) を算出した。

DDW と比較し、リドカイン塩酸塩水和物は  $HO^\cdot$  と  $O_2^{\cdot-}$  を濃度依存性に有意に消去した (共に  $IC_{50} = 0.03\%$ )。

$HO^\cdot$  と  $O_2^{\cdot-}$  は炎症に深く関与する ROS として広く知られている。本研究においてリドカイン塩酸塩水和物が  $HO^\cdot$  と  $O_2^{\cdot-}$  を消去したことから、リドカイン塩酸塩水和物は炎症性疾患における局所麻酔作用に加え、抗酸化作用を発揮することで抗炎症作用を示す可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Investigation for antioxidant properties of lidocaine hydrochloride hydrate

---

○Kuroda H<sup>1</sup>, Yoshida A<sup>2</sup>, Yoshino F<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Anesthesiol, Kanagawa Dent Univ, <sup>2</sup>Dept Dent Educ, Kanagawa Dent Univ, <sup>3</sup>Dept Pharmacol, Kanagawa Dent Univ

---

Local anesthetics are most frequently used drugs not only in dentistry but also in a whole medicine, and the relationship between local anesthetics and oxidative stress has recently attracted attention. Many of the diseases treated in dentistry are inflammatory diseases, and local anesthetics are used for analgesia in the treatment. In addition, if local anesthetics also have anti-inflammatory effects, they may provide a better prognosis for patients, but it has not been clarified whether local anesthetics have antioxidant effects.

Hydroxyl radicals ( $HO^\cdot$ ) were generated by the  $H_2O_2 + UV$  system, and superoxide ( $O_2^{\cdot-}$ ) was generated by the  $TiO_2 + H_2O_2 + UV$  system. Reactive oxygen species (ROS) was measured using electron spin resonance technique. Lidocaine hydrochloride hydrate (LH, 0.002, 0.02, 0.2, and 2 w/v%) was added to these systems, and after measuring antioxidant activity,  $IC_{50}$  was calculated by fitting using the logistic function.

LH significantly inhibited ROS in a concentration-dependent manner ( $IC_{50} = 0.03\%$ , respectively).  $HO^\cdot$  and  $O_2^{\cdot-}$  are widely known involved in inflammatory diseases. These results suggest that LH may exhibit anti-inflammatory effects by exerting antioxidant properties in addition to local anesthetic effects in inflammatory diseases.

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

---



---

## 2-PG4 胎児期からの酵素補充療法が $Akp2^{-/-}$ マウス顎骨に与える影響について

---

○石束 叡, 高橋 有希, 伊藤慎一郎, 徳山 彰秀, 笠原 正貴  
東歯大 薬理

低ホスファターゼ症 (hypophosphatasia, HPP) は, 組織非特異的アルカリホスファターゼ遺伝子 (TNAP) の変異により, 血中のアルカリホスファターゼ (ALP) 濃度が低下し, 硬組織の石灰化不全, 痙攣発作, 乳歯の早期脱落等を主徴とする遺伝性疾患である. 現在, 組換えミネラル標的 TNAP による酵素補充療法 (ERT) が, 出生後すぐに投与できることから治療に用いられている. この療法は寿命延長に有効であるが, 生涯にわたって週 3 回の皮下注射治療を継続しなければいけないなど, 改善すべき問題点を有している. 以前の研究では, 重症型 HPP モデルマウスである TNAP ノックアウトマウス ( $Akp2^{-/-}$ ) に対し, 母体に組換え TNAP を投与することで胎児期からの治療を行ったところ, 生存期間の延長や長管骨の骨質改善と共に, 重症 HPP の重大な合併症を予防することが明らかとなった. 一方, 本治療法の顎骨への効果については解析はなされておらず, 不明な点が残されている. そこで本研究では, 重症 HPP モデルである  $Akp2^{-/-}$  マウスに組み換え TNAP を出生前および出生後から投与し, 頭蓋顔面領域への有効性について検討を行った. 実験は出生直後  $Akp2^{-/-}$  マウスおよび妊娠中の母マウスに組み換え TNAP を投与した (出生後 ERT 群および出生前 ERT 群). 生後 20 日齢で屠殺を行い, 下顎骨のエックス線画像解析, 組織学的解析を行った. 対照群として, 同日齢の C57BL/6J 野生型マウス (WT) および  $Akp2^{-/-}$  マウス (未治療群) を用いた. 出生前 ERT 群および出生後 ERT 群は,  $Akp2^{-/-}$  マウス (未治療群) と比較して顎骨骨質の有意な改善を認めた. 一方, 出生後 ERT 群と出生前 ERT 群の間で有意な差は認めなかった. 今回の結果より妊娠中の母体を介した出生前 ERT 治療は, 全身の長管骨と同様, 顎骨の骨質改善にも寄与することが明らかとなった. 本研究から, 出生前 ERT の将来的な有用性が示された. **【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

### Efficacy of enzyme replacement therapy from prenatal period on the jaw bone of $Akp2^{-/-}$ mice

---

○Ishizuka S, Takahashi A, Ito S, Tokuyama A, Kasahara M  
Dept Pharmacol Tokyo Dent Coll

Hypophosphatasia (HPP) is characterized by low blood alkaline phosphatase (ALP) levels due to mutations in the tissue nonspecific alkaline phosphatase gene (TNAP). Enzyme replacement therapy (ERT) with recombinant mineral-targeted TNAP is currently used for treatment. This therapy is effective in extending life expectancy, but has some problems that need to be improved. In a previous study, TNAP knockout mice ( $Akp2^{-/-}$ ) were treated from the fetal period by maternal administration of recombinant TNAP, which was shown to prolong survival and improve long bones. On the other hand, the effect of this treatment on the jawbone has not been analyzed. In this study, recombinant TNAP was administered to  $Akp2^{-/-}$  mice prenatally, and its efficacy in the craniofacial region was examined. Recombinant TNAP was administered to pregnant mothers (prenatal ERT group). Mice were sacrificed at 20 days of age, and radiographic and histological analyses of the mandible were performed. The prenatal ERT group showed a significant improvement in the bone quality of the jaw compared to  $Akp2^{-/-}$  mice (untreated group). These results indicate that prenatal ERT treatment via the mother during pregnancy contributes to the improvement of bone quality of the jawbone as well as the long bones.

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

---

---

## 2-PG5 バニリンの卓越した UVC 保護効果およびデクチン-2 の発現との相関

---

○坂上 宏<sup>1</sup>, 安部 雅世<sup>2</sup>, 猪俣 恵<sup>2</sup>, 魚田 慎<sup>1,3</sup>, 天野 滋<sup>1</sup>, 田沼 靖一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>明海大 歯科医学総合研, <sup>2</sup>明海大 歯 口腔生物再生医工 微生物, <sup>3</sup>日本三晶製薬株式会社

---

【目的】 COVID-19 対策として、殺ウイルス作用の UVC 機器が普及しており、UVC による健康被害の対処法の確立も重要である。我々は、多量の試料の抗 UVC 活性を定量的に測定できる方法を開発する過程で、PBS(-)中で照射を行うと細胞が剥離し、回収される細胞が著しく減少すること、また、ヒト口腔扁平上皮がん細胞が、ヒト口腔正常細胞よりも高い UVC 感受性を示すことを見出した (In Vivo 36, in press, 2022)。今回、ヒト皮膚線維芽細胞 HDFa を用いて UVC 保護物質の網羅的検索、および UV 耐性への関与が報告されている Dectin-2 の発現について検討した。【方法】 HDFa および対照の COLO679 メラノーマ細胞を DMEM/10% FBS 中で、3 分間、UVC (1.022 mW/m<sup>2</sup>) 照射し、新鮮培地に置換後、48 時間培養し、生細胞数を MTT 法で定量した。抗 UVC 活性 (SI) は、薬剤の 50% 細胞傷害濃度 (CC<sub>50</sub>) を、照射により減少した生細胞数を 50% 回復させる濃度 (EC<sub>50</sub>) で割り求めた。細胞周期は、細胞固定・PI 染色後に、Dectin-2 タンパク質の発現は抗体を用いて、セルソーターにより解析した。【結果】 COLO679 は、HDFa よりも感受性が高く、照射後、経時的に subG1 の集団が増加した。これらの細胞は、いずれも Dectin-2 を発現していた。Sodium ascorbate (SI > 135) と Vanillin (SI > 128) は最大の抗 UVC 活性を与え、桂皮酸類、リグニン、アルカリ抽出液、タンニン類の順に低下した。【考察】 Vanillin が卓越した抗 UVC 活性を示すことが明らかになった。UVC 照射後の修復の可能性および Dectin-2 の発現の変動について検討中である。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

### Prominent UVC protective effect of vanillin and its relation to dectin-2 expression

---

○Sakagami H<sup>1</sup>, Abe M<sup>2</sup>, Inomata M<sup>2</sup>, Uota S<sup>1,3</sup>, Amano S<sup>1</sup>, Tanuma S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Meikai Univ Res Inst Odont, <sup>2</sup>Dept Oral Biol Tissue Eng Div Microbiol Meikai Univ Sch Dent, <sup>3</sup>Nippon Sunshow Med Manu Co Ltd

---

As a countermeasure against COVID-19, virucidal UVC equipment is spreading, making it important to explore UVC protective substances. We recently reported that irradiation in PBS (-) significantly reduced cell viability, and human oral squamous cell carcinoma cell lines showed much higher UVC sensitivity than normal oral cells. In this study, we searched for UVC protective substances using human dermal fibroblast HDFa and investigated possible correlation between UVC sensitivity and Dectin-2 expression. Cells were irradiated with UVC (1.022 mW/m<sup>2</sup>) in DMEM/10% FBS for 3 min, replaced with fresh medium, and cultured for 48 hours to quantify cell viability with MTT method. Anti-UVC activity (SI) was determined by dividing CC<sub>50</sub> by EC<sub>50</sub> that restored 50% of UVC-induced reduction of cell viability. Cell cycle distribution and Dectin-2 expression were analyzed by cell sorter. COLO679 were more sensitive than HDFa, and subG1 population increased time-dependently after UVC irradiation. Both HDFa and COLO679 cells expressed Dectin-2. Sodium ascorbate (SI > 135) and Vanillin (SI > 128) gave the maximum anti-UVC activity, followed by cinnamic acid derivatives, lignin, alkaline extracts and tannins. The present study demonstrated prominent anti-UVC activity of vanillin. Possible repair activity of vanillin and changes in Dectin-2 expression after UVC irradiation is under investigation.

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

---

---

**2-PG6** (取り下げ)

---

---

(**withdrawn**)

---

---

## 2-PG7 新型コロナウイルス感染症における舌粘膜の解析

---

○坂口和歌子<sup>1</sup>, 猿田 樹理<sup>2</sup>, 山本 裕子<sup>3</sup>, 浜田 信城<sup>4</sup>, 槻木 恵一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神歯大 病理 組織形態 環境病理, <sup>2</sup>神歯大 教育企画, <sup>3</sup>神歯大短期学部 衛生, <sup>4</sup>神歯大 微生物

---

緒言：新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)では、上気道や下気道などの細胞表面に存在するACE2がウイルスを細胞内に取り込む際の受容体として作用している。SARS-CoV-2感染に重要なスパイクタンパクは、S1とS2から構成され、S1にreceptor binding domain(RBD)が、S2には膜融合部が認められる。SARS-CoV-2が生体に侵入する際、S2の膜融合部の活性化が必要で、TMPRSS2が担っている。そうして侵入したSARS-CoV-2のS1-RBDと生体側のACE2が結合し、感染が確立する。デルタ株までのSARS-CoV-2の感染確立には、ACE2およびTMPRSS2の共発現が必要である。今回、COVID-19感染解剖検体の舌粘膜から、ACE2、TMPRSS2、Sタンパクの発現を解析し、ウイルス感染と感染関連因子の関連を検討したので報告する。症例：COVID-19で死亡した20症例から、解剖時に摘出された舌粘膜を用い、免疫組織化学的染色方法、免疫電子顕微鏡観察方法を用いパンデミック前の舌の標本と比較した。結果：COVID-19感染症例の舌粘膜上皮では、基底層および棘細胞層にSタンパクの陽性所見が認められた。また、表層の角化層でも部分的に強い陽性所見が観察された。SタンパクとACE2の陽性所見は一致する傾向が認められた。TMPRSS2は、上皮細胞にびまん性に陽性所見が観察された。電子顕微鏡では周囲に突起を伴う類円形の粒子が観察され、免疫電子顕微鏡でも舌の上皮内にS蛋白陽性を認めた。考察：以上より、SARS-CoV-2は、舌粘膜上皮に感染することが示唆された。口腔は、SARS-CoV-2の感染フォーカスである一方、粘膜免疫でSARS-CoV-2排除機構の存在も示唆され、口腔におけるSARS-CoV-2感染メカニズムの詳細な解明が重要になる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Analysis of the tongue mucosa in COVID-19 infection

---

○Sakaguchi W<sup>1</sup>, Saruta J<sup>2</sup>, Yamamoto Y<sup>3</sup>, Hamada N<sup>4</sup>, Tsukinoki K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Environmental Pathol, Kanagawa Dent Univ, <sup>2</sup>Dept Education Planning, Kanagawa Dent Univ, <sup>3</sup>Dept Junior Coll, Kanagawa Dent Univ Sch Dent Hygiene, <sup>4</sup>Dept Microbiol, Kanagawa Dent Univ

---

In SARS-CoV-2, ACE2 acts as a receptor for viral entry into the cell, S1 as a receptor binding domain (RBD), and S2 as a membrane fusion site, and intracellular co-expression of ACE2 and TMPRSS2 is required for the establishment of SARS-CoV-2 infection. In the present study, we analyzed the expression of ACE2, TMPRSS2, and S proteins in the tongue mucosa of autopsy subjects who died of COVID-19 and examined their association with virus infection and infection-related factors. Tongue mucosa removed at autopsies of 20 cases who died of COVID-19 were compared with pre-pandemic tongue mucosa using immunohistochemical staining and immunoelectron microscopy. In the tongue mucosal epithelium of COVID-19-infected cases, positive findings of S protein were observed in the basal and spinous cell layers, positive findings of S protein and ACE2 tended to coincide, and positive findings of TMPRSS2 were observed scattered in the epithelial cells. Electron microscopy showed particles shaped with protrusions around them, and immunoelectron microscopy also showed positive findings of S-protein in the tongue epithelium. These results suggest that SARS-CoV-2 infects the mucosal epithelium of the tongue and that the oral cavity is a focus of SARS-CoV-2 infection.

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

---



## 2-PG8 *Fusobacterium nucleatum* の誘導による新規歯周病モデルマウスの作製と評価

○戸田みゆき<sup>1</sup>, 小林 良喜<sup>2</sup>, 泉福 英信<sup>2</sup>, 岡田 裕之<sup>3</sup>

<sup>1</sup>日大 院松戸歯, <sup>2</sup>日大松戸歯 感染免疫, <sup>3</sup>日大松戸歯 組織

歯周炎は歯周病原性細菌と宿主間の免疫応答バランスによって発症すると考えられている。歯周病原性細菌の1つである *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) は歯周炎のみならず、口腔感染症、異常妊娠、消化器疾患等の全身疾患との関与が示唆されている。しかし、*F. nucleatum* が歯周炎や歯周炎関連全身疾患の発症に至る機序は不明な点が多い。そこで、本研究は *F. nucleatum* が歯周炎や歯周炎に関連する全身疾患の発症に及ぼす影響を検討するために、*F. nucleatum* (Fn) 誘導型歯周病 (Fn-perio) モデルマウスを作製し検討を行った。ヒト歯周病原性細菌 *F. nucleatum* を  $1 \times 10^9$  CFU/100 $\mu$ l/mouse になるように5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 溶液で懸濁し、6週齢雌のBALB/cマウスの口腔内にピペットを用いて15日間連続接種 (Fn群) させた。対照群にはCMCのみを投与 (CMC群) した。最終口腔内接種から30日後に歯周組織を含む顎骨または歯肉を採取し、免疫学的及び組織学的手法により評価を行った。Fn群ではCMC群と比較して顕著な歯槽骨吸収を認め、歯槽骨頂付近にTRAP陽性の破骨細胞が集積していることが確認された。また、歯肉中に炎症性サイトカインが顕著に増加していることが、リアルタイムPCR法により認められた。このことから、*F. nucleatum* の口腔内接種により歯周炎を惹起させたことが示された。次に、歯肉炎症巣において炎症性細胞の動態を蛍光免疫染色法により検討したところ、CMC群に比べてCD11b<sup>+</sup>/F4/80<sup>+</sup>マクロファージが集積していることが認められた。以上の結果より、*F. nucleatum* の口腔内接種により歯肉炎と歯槽骨吸収を呈することが示された。さらに、炎症性細胞動態を検討することが可能であることから、我々が作製したFn-perioマウスにより、歯周炎や歯周炎関連全身疾患の発症機序の検討が行える。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

## Creation and evaluation of a novel mouse model of periodontal disease by induction of *Fusobacterium nucleatum*

○Toda M<sup>1</sup>, Kobayashi R<sup>2</sup>, Senpuku H<sup>2</sup>, Okada H<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Nihon Univ Grad Sch Dent at Matsudo, <sup>2</sup>Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>3</sup>Dept 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. *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) has been implicated not only in periodontitis but also in systemic diseases such as oral infections, abnormal pregnancy, and digestive disorders. However, the mechanism by which *F. nucleatum* leads to the development of periodontitis and periodontitis-related systemic diseases remains unclear. In this study, we examined the effects of *F. nucleatum* on the development of periodontitis and periodontitis-related systemic diseases by creating a mouse model of *F. nucleatum*-induced periodontal disease. *F. nucleatum* was orally and continually inoculated into BALB/c mice (Fn group) for 15 days. Jawbone and gingiva were examined 30 days after oral inoculation by immunological and histological techniques. The inflammatory cytokines in the gingiva of the Fn group were markedly increased compared with CMC. Fluorescence immunostaining showed that CD11b<sup>+</sup> cells and F4/80<sup>+</sup> macrophages in the Fn group accumulated in the lamina propria of the gingiva. Further, osteoclasts were found near the alveolar apex by TRAP staining. In addition, significant alveolar bone resorption was observed. These results suggest that periodontitis was induced by *F. nucleatum*.

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

---

## 2-PG9 カフェイン酸フェネチルエステル (CAPE) による抗 CD3 抗体刺激マウス脾細胞のサイトカイン産生調節機構

---

○安藤 恵<sup>1</sup>, 神谷 真子<sup>2</sup>, 池野久美子<sup>3</sup>, 上野 恭平<sup>1</sup>, 梅村 直樹<sup>1</sup>, 高山 英次<sup>1</sup>,  
川木 晴美<sup>1</sup>, 中村源次郎<sup>3</sup>, 近藤 信夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>朝日大 歯 口腔生化, <sup>2</sup>朝日大 経営 経営, <sup>3</sup>株式会社秋田屋本店

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- $\gamma$ 、IL-6 および IL-17 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  $\mu$ 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た。一方、我々は既にブラジル産グリーンプロポリスの主成分である artemillin C が CAPE と同様に CD3 抗体刺激脾細胞の IL-2 産生を顕著に促進することを見出し、artemillin C のこの作用は、ストア制御性 Ca<sup>2+</sup> + チャンネルの一つである TRPA1 の制御を介して翻訳レベルで行われていることを突き止めている (Tsuruta H, J Oral Biosci 印刷中) CAPE は、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り、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。CAPE による刺激脾細胞のサイトカイン制御が、転写、翻訳、分泌レベルでどのように調節されているのか、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。

---

## Regulatory mechanism of cytokine productions from anti CD3 antibody-stimulated mouse spleen cells by caffeic acid phenethyl ester (CAPE)

---

○Megumi A<sup>1</sup>, Kamiya M<sup>2</sup>, Ikeno K<sup>3</sup>, Ueno K<sup>1</sup>, Umemura N<sup>1</sup>, Eiji T<sup>1</sup>, Kwaki H<sup>1</sup>,  
Nakamura G<sup>3</sup>, Kondoh N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Business Admin, Asahi Univ Sch Manage, <sup>3</sup>Kabusikigaisha Akitayahonten

Chinese propolis (CP) is a chemical complex exerting anti-inflammatory, anti-septic and tumoricidal effects. However, 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- $\gamma$  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  $\mu$ , a major component of BP. We have already reported that the major component of artemillin C, a Brazilian green propolis, can successfully enhance IL-2 production from stimulated spleen cells (Tsuruta H, J Oral Biosci, 2022 in press). It has been reported that CAPE suppresses immune response, at least in part, by enhancing Treg population. Therefore, CAPE may contribute immune suppression via the function of IL-2 and IL-4. We are investigating underlying mechanisms of how the CAPE exerts the pleiotropic regulations upon cytokines in stimulated spleen cells.

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

---

---

## 2-PG10 *Candida albicans* 口腔感染によって誘導される免疫応答の解析

---

○豊永 憲司<sup>1</sup>, 永尾 潤一<sup>1,2</sup>, 水上 昂<sup>3</sup>, 田崎 園子<sup>1</sup>, 岸川 咲吏<sup>1</sup>, 加地 英美<sup>1</sup>,  
根来香奈江<sup>1</sup>, 田中 芳彦<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>福歯大 機能生物 感染生物, <sup>2</sup>福歯大 口腔医学セ, <sup>3</sup>福歯大 リサーチスチューデント

---

皮膚や粘膜に常在真菌として定着している *Candida albicans* (*C. albicans*) は、免疫抑制剤の使用や高齢化に伴う宿主抵抗力の低下に伴って口腔カンジダ症や、時に播種性カンジダ症を引き起こすことが知られている。マウスを用いた全身性の *C. albicans* 感染モデルの解析によって、播種性カンジダ症に関しては、Dectin-1 や Dectin-2 といった C 型レクチン受容体などの自然免疫受容体を介した重要な防御機構が明らかになってきたものの、*C. albicans* 口腔感染に対する宿主防御機構については未だ不明な点が多い。いくつかの口腔カンジダ症モデルマウスが報告されているものの、その多くは、プレドニゾロンなどの免疫抑制剤を投与することによって口腔内の *C. albicans* の増殖を促すものであり、宿主免疫を介した感染制御機構に関してはあまり解析が進んでいない。そこで今回我々は、免疫抑制剤を利用しない口腔カンジダ症モデルマウスにおいて、いくつかの宿主防御応答の経時的な解析を試みた。*C. albicans* SC5314 株を用いて口腔カンジダ症モデルを実施し、このマウスでは、感染後 4 日目までにほとんどの菌が排除されることを見出した。その間、感染組織である舌における炎症性メディエーターの変動をマルチプレックスビーズアッセイによってモニターしたところ、これらの産生のピークは、感染後翌日から二日目であった。本演題では、口腔カンジダ症モデルマウスにおける、これらの炎症性メディエーターの役割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 immune responses to *Candida albicans* in a murine oral infection model

---

○Toyonaga K<sup>1</sup>, Nagao J<sup>1,2</sup>, Mizukami K<sup>3</sup>, Tasaki S<sup>1</sup>, Kishikawa S<sup>1</sup>, Kaji E<sup>1</sup>, Negoro K<sup>1</sup>,  
Tanaka Y<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll, <sup>3</sup>Research Student, Fukuoka Dent Coll

---

*Candida albicans* (*C. albicans*) is commensal fungi in human that causes oral candidiasis and disseminated candidiasis in immunocompromised hosts. Although analysis of a murine model of systemic candidiasis has revealed important defense mechanisms in disseminated candidiasis, the detailed control mechanisms for oral candidiasis are poorly understood. Therefore, we attempted to analyze the host defense mechanism in a murine model of oral candidiasis (without immunosuppressive agents). In these mice, the production of various inflammatory cytokines and chemokines was observed in the tongue, which is an infected tissue, and most of the fungus were eliminated by the four days after infection. In this presentation, we would like to discuss the role of these inflammatory mediators in oral candidiasis.

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

---

---

## 2-PG11 歯周病の病態形成を制御する宿主免疫システムの解明

---

○永尾 潤一<sup>1,2</sup>, 岸川 咲吏<sup>1</sup>, 豊永 憲司<sup>1</sup>, 加地 英美<sup>1</sup>, 根来 (安松) 香奈江<sup>1</sup>,  
田崎 園子<sup>1</sup>, 田中 芳彦<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>福歯大 機能生物 感染生物, <sup>2</sup>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が原因となる炎症性の疾患であり、歯を喪失する最も大きな原因となる。近年の解析により、歯周病の病態形成には、歯周病原細菌に対する宿主の免疫応答が重要な役割を果たすことが明らかになってきている。近年、歯周病の病態形成にはサイトカイン IL-17A 産生を特徴とする Th17 細胞による宿主の免疫応答が関与することが報告されている。口腔内の歯周病原細菌が抗原となり、Th17 細胞による免疫応答が誘導されると考えられるが、歯周病の病態形成に関わる Th17 細胞の制御機構は不明な点が多い。本研究では、歯周病の病態形成機構を、歯周病原細菌に対する口腔と全身における Th17 細胞を介した免疫応答に着目して解明することを目的とする。我々は、歯周病との関連性が高い歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* W83 株をマウスに感染することで、歯周病マウスモデルを構築した。構築した歯周病マウスモデルを用いて、*P. gingivalis* に応答する Th17 細胞の口腔と全身における動態と歯周病の病態形成との関連を解析した。また、宿主因子として腸内細菌叢に着目し、*P. gingivalis* に応答する Th17 細胞応答および歯周病の病態形成への影響を解析した。その結果、*P. gingivalis* 応答性の Th17 細胞は腸管を介して全身性に応答し、歯周病の病態形成に関与することが示された。また、宿主因子としての腸内細菌叢は、全身性の Th17 細胞応答に関与することで歯周病の病態形成を制御することが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Investigation of immunological systems regulating the pathogenesis of periodontitis

---

○Nagao J<sup>1,2</sup>, Kishikawa S<sup>1</sup>, Toyonaga K<sup>1</sup>, Kaji E<sup>1</sup>, Negoro-Yasumatsu K<sup>1</sup>, Tasaki S<sup>1</sup>,  
Tanaka Y<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Oral 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. It has been reported that the pathogenesis of periodontitis is mediated by host immune response, especially IL-17A-producing helper T cells, Th17 cells. However, the regulatory mechanisms to induce the immune response via Th17 cells against periodontal pathogens are not well understood. In this study, we aim to elucidate the regulatory mechanisms of Th17 cell-mediated pathogenesis of periodontitis focused on systemic immunological network. We developed a mouse model of periodontitis caused by infection with *Porphyromonas gingivalis*. We found that systemic immune response via *P. gingivalis*-responsive Th17 cells are important for the development of periodontitis. We also found that intestinal microbiota is involved in the systemic response of *P. gingivalis*-responsive Th17 cells and the development of periodontitis.

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

---



## 2-PG12 マウス刺激脾細胞のインターロイキン-2 産生におよぼすミダゾラムの効果

○神谷 真子<sup>1</sup>, 高山 英次<sup>2</sup>, 川木 晴美<sup>2</sup>, 梅村 直己<sup>2</sup>, 上野 恭平<sup>2</sup>, 高橋 萌<sup>3</sup>,  
智原 栄一<sup>4</sup>, 村松 泰徳<sup>3</sup>, 近藤 信夫<sup>2</sup>

<sup>1</sup>朝日大 営 化学, <sup>2</sup>朝日大 歯 口腔生化, <sup>3</sup>朝日大 歯 口外, <sup>4</sup>朝日大 保 総合医科

【目的】我々は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、インターフェロン (IFN)- $\gamma$  の産生能を温存し、Th2 サイトカイン、インターロイキン (IL)-10 産生能を阻害することを明らかにしている。本研究では、ミダゾラムが、刺激脾細胞において IL-10 のみならず IL-2 産生能をも強く抑制することを見出したので、その特徴を IL-10 産生への効果と比較した。【方法】マウス脾細胞は、抗マウス CD3 抗体を用いて T リンパ球特異的受容体を刺激し、ミダゾラムを含んだ培養液中で 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 存在下にて培養した。刺激後 0~48 時間後まで、経時的に培養上清を回収し、IL-2 および IL-10 の濃度を酵素結合免疫吸着法にて測定した。同時に細胞も回収し Isogen を用いて RNA を抽出し、定量的 PCR 法 (SYBR Premix EX Taq, TaKaRa) により転写量を解析した。【結果と考察】刺激脾細胞の IL-10 産生能に対するミダゾラムの抑制効果は、ごく低濃度の 0.2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  から観察し始め、5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  での IL-10 の産生量は、対照群の約 20% であった。これに対し、IL-2 産生は 0.2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ミダゾラムでは抑制されなかったが、5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  で対照群の 5% 以下にまで低下しており、IL-10 に対する効果に比較してより強い抑制効果を発揮した。さらに、ミダゾラム (5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) がサイトカインの転写量に与える効果を経時的に観察したところ、ミダゾラムは両サイトカイン mRNA 量を有意に低下させた。しかし、IL-10 mRNA 発現に対する抑制効果は刺激から 48 時間後に特に強まり対象群の約 20% にまで低下させたのに対し、IL-2 mRNA の転写量は刺激後 48 時間まで終始、対照群の 50% 前後を推移していた。以上の結果から、低容量のミダゾラムは、刺激脾細胞の IL-2 産生に対して、サイトカインタンパク質レベルのみならず、転写レベルでも強い抑制効果有しているが、その抑制機構は IL-10 の抑制とは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。

### Effect of midazolam on the interleukin-2 production in stimulated mouse splenocytes

○Kamiya M<sup>1</sup>, Takayama E<sup>2</sup>, Kawaki H<sup>2</sup>, Umemura N<sup>2</sup>, Ueno K<sup>2</sup>, Takahashi M<sup>3</sup>, Chihara E<sup>4</sup>,  
Muramastu Y<sup>3</sup>, Kondoh N<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin, <sup>2</sup>Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent, <sup>4</sup>Dept Gen Med, Asahi Univ Sch Health Sci

We have reported that midazolam suppressed the interleukin (IL)-10-production from T lymphocyte specific receptor-stimulated splenocytes in vitro, but it hardly suppressed the production of IFN- $\gamma$ . In this study, we investigated the effects of midazolam on IL-2-production in stimulated splenocytes, and compared its characteristics with that on IL-10 production.

The suppressive effect of midazolam on IL-10-production by stimulated splenocytes began to be observed from a very low concentration of 0.2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , and then the IL-10-production at 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  was about 20% of the control (in the absence of midazolam). In contrast, IL-2-production was not suppressed by 0.2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  midazolam, but decreased to less than 5% of the control at 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . The IL-10 mRNA expression began to be suppressed from 3 hours after stimulation and the suppressive effect was particularly strong 48 hours after stimulation and decreased to 20% of control. IL-2 mRNA expression was also reduced to 40-80% by midazolam compared to the control.

These results suggested that low-dose midazolam has a strong suppressive effect on IL-2-production in stimulated splenocytes not only at the protein level. However, the mechanism for the IL-2 suppression by midazolam may be different from that for the suppression of IL-10.

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

## 2-PG13 特異的光ラベルによる舌下免疫細胞クラスター構成細胞の解明

○楠本 豊<sup>1</sup>, 片岡 宏介<sup>2</sup>

<sup>1</sup>大阪大谷大 薬 免疫, <sup>2</sup>徳大 院医歯薬 口腔保健福祉

舌下免疫療法や舌下投与ワクチンでは抗原は舌下粘膜に投与されるが、舌下粘膜における免疫応答機序は十分に判っていない。我々は定常状態のマウス舌下粘膜に樹状細胞 (DC) と T 細胞を含むクラスター (SDTC) を見いだしている。そこで、SDTC の特徴と機能を解明するために SDTC を構成する T 細胞と DC のサブセットを明らかにした。T 細胞の解析には、光変換タンパク質 KikGR を発現する KikGR マウスの骨髄細胞を X 線照射した野生型 C57BL/6 マウスに移入して作製した KikGR 骨髄キメラマウスを用いた。共焦点レーザー顕微鏡の ROI を利用して SDTC のみに紫光を照射して SDTC 構成細胞を赤色にマークした後、フローサイトメトリーで解析した。その結果、SDTC および SDTC 外とも CD4 + T 細胞が 7~80% 程度、CD8 + T 細胞が 10% 以上存在し、興味深いことに CD4 + T 細胞のほぼ半数は制御性 T 細胞 (Treg) であった。免疫組織染色より、CD4 + T 細胞は結合組織内に、CD8 + T 細胞は主に上皮層内に存在した。DC が KikGR を発現する CD11c-KikGR マウスを用いて、T 細胞と同様に SDTC の細胞のみを赤色にマークして解析した。その結果、主な舌下 DC は、SDTC および SDTC 外とも CD11b + DC であったが、SDTC では cDC1 マーカーである XCR1 + DC が 5%、ランゲルハンス細胞が 7% と、SDTC 外の 2% および 5% と比べ SDTC で多く含まれていた。また、SDTC では、DC と T 細胞が密に接触していた。CD11b + DC は Treg を、cDC1 は CD8 + T 細胞をそれぞれ活性化すると考えられている。従って、定常状態の SDTC は、CD4 + T 細胞、特に Treg を介した食物や共生細菌に対する免疫寛容に加え、CD8 + T 細胞の舌下での維持・調節の場を形成している可能性が考えられた。共同研究者：戸村道夫、橋本菜由子

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### Elucidation of sublingual immune cell cluster constituent cells by specific photolabeling

○Kusumoto Y<sup>1</sup>, Kataoka K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Labo Immunol, Osaka Ohtani Univ Fac Pharm, <sup>2</sup>Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, Dept Oral Health Sci Soc Welfare

We have found clusters of dendritic cells (DCs) and T cells in the steady-state mouse sublingual mucosa (SDTCs). To characterize SDTCs, we identified a subset of T cells and DCs in SDTCs. For T cell analysis, we used photoconvertible protein KikGR bone marrow chimeric mice, in which hematopoietic cells express KikGR. The ROI of the confocal laser microscopy was used to irradiate only SDTCs with violet laser to mark SDTC component cells in red and analyzed by flow cytometry. Both SDTCs and non-SDTCs had 7~80% CD4 + T cells and over 10% CD8 + T cells, and almost half of CD4 + T cells were regulatory T cells (Treg). CD4 + T cells were located in the lamina propria, while CD8 + T cells were mainly in the epithelium. Using CD11c-KikGR mice in which DCs express KikGR, only DCs in SDTC were marked red as above. The major sublingual DCs were CD11b + DCs, however the cDC1s and Langerhans cells were abundant in SDTCs. DCs and T cells were in close contact in SDTCs. CD11b + DCs and cDC1 are thought to activate Tregs and CD8 + T cells, respectively. Therefore, SDTCs may form a site for sublingual maintenance and regulation of CD8 + T cells and immune tolerance to food and commensal bacteria via Tregs.

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

---

## 2-PG14 新規免疫チェックポイント分子 ILDR2 の発現

---

○張 晨陽, 奥原 滋, 永井 重徳, 東 みゆき  
医科歯科大 院医歯 分子免疫

---

### The expression of novel immune checkpoint molecule ILDR2

---

○Zhang C, Okuhara S, Nagai S, Azuma M  
Dept Mol Immunol TMDU Grad Sch Med Dent

---

**Purpose:** We previously reported that repeated antigen-painting onto sublingual mucosa induced tolerogenic CD206 + macrophage, which preferentially expressed a novel B7 family of immune checkpoint molecule, immunoglobulin-like containing domain receptor 2 (ILDR2). To date, the studies according to the physiological and pathological role of ILDR2 are limited. In this study, we evaluated the mRNA and protein expression level of ILDR2 in various tissues and organs. **Materials & Methods:** The mRNA expression level of ILDR2 in different tissue from embryo and adult mouse is determined by using in situ hybridization and qRT-PCR, respectively. The protein level of ILDR2 is evaluated by FACS analysis using an anti-ILDR2 mAb. Moreover, to examine dynamic expression level of ILDR2 in autoimmune disease, experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) is applied. **Results:** Data base reveals that murine Ildr2 mRNA is highly expressed in the CNS of embryo and adult mouse, moderated expressed in adult kidney, liver and ovary, low or under detectable in other organs, such as immune organs. ILDR2 was detected in pia mater and choroid plexus of brain and in choroid and retina of eye at E15 and P0. As compared with embryo, the expression level was enhanced and the distribution was extended, moderated expression of ILDR2 was detected in adult kidney and liver. The ILDR2-expressed cell types in CNS were further evaluated. Though microglia showed highest expression at mRNA level, astrocytes were probably the major ILDR2 expression cell type at protein level. Moreover, the expression level of ILDR2 sustained high level in the CNS of EAE mice. **Conclusion:** Expression of ILDR2 is highly limited in immune privilege sites such as CNS and eye, indicating its homeostatic function. The roles and function of ILDR2 in maintaining homeostasis, disease prevention and recovery promotion requires further exploration and definition.

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

---

---

## 2-PG15 *Porphyromonas gingivalis* の Mfa1 線毛構成タンパク質をコードする遺伝子の発現解析

---

○藤田 真理, 宮川 博史, 永野 恵司

北医療大 歯 微生物

【目的】 *Porphyromonas gingivalis* の主要線毛の一つである Mfa1 線毛は, Mfa1~Mfa5 の 5 つのタンパク質から成り, これらをコードする遺伝子 *mfa1*=*mfa5* は, 染色体上に連続して並んでいる。また, 最近, *mfa5* を 2 つ (*mfa5-1* および *mfa5-2* とする) 有する株が報告された。この場合, 2 つの *mfa5* は隣接して並んでいる。本研究では, *mfa1*=*mfa5* の転写単位や転写活性について解析した。【方法】 *mfa5* を 1 つ有する ATCC 33277 および TDC60 株, および 2 つ有する HG66 および A7436 株を用いた。定法に従い, cDNA を調整した。転写単位は, 遺伝子間をまたがるように設計したプライマーを用いて, 通常の PCR 法で解析した。転写活性は, 各遺伝子特異的なプライマーを用いて, リアルタイム PCR 法で解析した。ATCC 33277 株の精製 Mfa1 線毛の SDS-PAGE および CBB 染色を行い, 線毛構成タンパク質を定量した。また, コンピュータプログラム (WebGeSTer DB) で, 転写終結構造を予想した。【結果】 すべての株で, *mfa1*=*mfa5*, あるいは *mfa5-2* まで, 1 つの mRNA として転写され得ることが示された。リアルタイム PCR では, いずれの遺伝子も同程度の PCR 効率を示した。そこで, 遺伝子間の発現比を解析したところ, *mfa2* に比して, *mfa1* は 4 から 12 倍の発現がみられた。一方, *mfa3* 以降は, *mfa2* と同程度であった。精製線毛の Mfa1~Mfa5 タンパク質の発現比は転写量と相関した。*mfa1* と *mfa2* の間に転写終結構造の形成が推定された。【結論】 *mfa1*=*mfa5* あるいは *mfa5-2* は, ポリシストロンを形成している。転写は, *mfa1* に比して *mfa2* 以降では顕著に低かった。これは, *mfa1* の下流に形成される転写終結構造によるためと考えられる。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Expression analysis of the gene encoding the Mfa1 fimbriae component protein of *Porphyromonas gingivalis*

---

○Fujita M, Miyakawa H, Nagano K

Div Microbiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

The *Porphyromonas gingivalis* Mfa1 fimbria is composed of the Mfa1 to Mfa5 proteins, encoded by the *mfa1* to *mfa5* genes, which are tandemly arrayed. Recent study showed that some strains had two *mfa5* genes (called *mfa5-1* and *mfa5-2*); the two genes are also adjacent. This study analyzed the transcriptional units and activities of *mfa1* to *mfa5* using strains with one (ATCC 33277 and TDC60) and two (HG66 and A7436) *mfa5*. The cDNA was prepared by a conventional method. Transcriptional units and activity were analyzed by a conventional and real-time PCR, respectively. Transcription termination structures were predicted by software (WebGeSTer DB). Mfa1 fimbrial proteins purified from ATCC 33277 were quantified by SDS-PAGE and CBB staining. The *mfa1* to *mfa5* or even *mfa5-2* could be cotranscribed in all strains. The transcription of *mfa1* was 4 to 12-fold greater than that of *mfa2* in all strains, while those of *mfa3* to *mfa5* were comparable to that of *mfa2*. Transcription and protein expression ratios were correlated. The *mfa1* to *mfa5* or *mfa5-2* genes formed a polycistron. Transcript levels of *mfa2* and downstream genes were significantly lower than that of *mfa1*, possibly due to a terminator formation between *mfa1* and *mfa2*.

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

---



---

## 2-PG16 *Porphyromonas gingivalis* ジンジパインはヒト血管内皮細胞の PAI-1 分解し、血管内皮の創傷治癒を遅延させる

---

○多田 浩之<sup>1</sup>, 西岡 貴志<sup>2</sup>, 松下 健二<sup>3</sup>, 菅原 俊二<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大院歯 口腔分子制御, <sup>2</sup>東北大院歯 リエゾン, <sup>3</sup>長寿セ 口腔疾患

---

**【目的】** 歯周病では、慢性炎症による歯周組織からの出血が繰り返される。血管内皮細胞より産生される plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) は、フィブリン分解の阻害により線溶系を調節するほか、血管内皮細胞の遊走による血管内皮の修復を担う。本研究は *Porphyromonas gingivalis* が、ヒト血管内皮細胞の PAI-1 および創傷治癒に及ぼす影響について検討した。**【方法】** ヒト血管内皮細胞 (HUVECs) を *P. gingivalis* 野生型株ないしジンジパイン欠損株で感染後、HUVECs から産生された PAI-1 レベルを ELISA で測定した。*P. gingivalis* による血管内皮の創傷治癒の影響は、擦過した血管内皮細胞の遊走能 (in vitro scratch assay) を測定した。**【結果】** *P. gingivalis* 野生型株の感染により HUVECs の PAI-1 レベルは著明に低下した。PAI-1 低下は、ジンジパイン欠損株およびジンジパイン阻害剤処理した *P. gingivalis* ではみられず、精製ジンジパインは PAI-1 を分解した。In vitro scratch assay にて *P. gingivalis* 生菌ならびに精製ジンジパインは HUVECs の遊走を遅延させた。同遊走作用は PAI-1 阻害剤ならびに PAI-1 受容体 LRP アンタゴニストで阻害されたことから、PAI-1 依存的である可能性が示唆された。**【考察】** *P. gingivalis* ジンジパインは、血管内皮細胞が産生する PAI-1 を分解し PAI-1 を介する血管内皮細胞の遊走を遅延させた。*P. gingivalis* による血管内皮細胞の PAI-1 分解は血管内皮バリアの維持を阻害し、歯周組織における出血の促進や口腔細菌の血管内侵入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。

---

## *Porphyromonas gingivalis* gingipains-mediated degradation of PAI-1 leads to delayed wound healing responses in human endothelial cells

---

○Tada H<sup>1</sup>, Nishioka T<sup>2</sup>, Matsushita K<sup>3</sup>, Sugawara S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Div Liaison, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Oral Dis Res, NCGG

---

**【Purpose】** Periodontal disease is characterized by bleeding of periodontal tissues that support the tooth. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) regulates vascular homeostasis via plasmin to degrade fibrin into fibrin degradation products. PAI-1 produced by vascular endothelial cells supports the maintenance by regulating vascular remodeling in the vascular endothelium. This study examined the effects of *P. gingivalis* gingipain on PAI-1 and wound healing in human vascular endothelial cells. **【Materials and Methods】** Human vascular endothelial cells (HUVECs) were infected with wild-type or gingipain-deficient strains of *P. gingivalis*, and PAI-1 levels produced by the HUVECs were measured by ELISA. The effect of *P. gingivalis* on wound healing of vascular endothelium was measured by in vitro scratch assay. **【Results】** Infection with a *P. gingivalis* markedly reduced PAI-1 levels in HUVECs, but not in *P. gingivalis* gingipain-null mutants or gingipain inhibitor-treated *P. gingivalis*, and purified gingipain degraded PAI-1. The degradation of PAI-1 by *P. gingivalis* induced a delayed wound healing response in endothelial cell layers via the LRP. **【Discussion】** Our results collectively suggested that the proteolysis of PAI-1 in endothelial cells by gingipains of *P. gingivalis* might lead to the deregulation of endothelial homeostasis, thereby contributing the permeabilization and dysfunction of the vascular endothelial barrier.

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

---

---

## 2-PG17 *Streptococcus gordonii* DL1 はリゾチームに抵抗性を示すことで貪食細胞による殺菌を回避している

---

○田代有美子<sup>1</sup>, 才木桂太郎<sup>1</sup>, 山中 幸<sup>1</sup>, 石川 結子<sup>2</sup>, 林田 尚斗<sup>1</sup>, 内川真由美<sup>1</sup>,  
高橋 幸裕<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日歯大 生命菌 微生物, <sup>2</sup>日歯大病院 総診

【目的】口腔常在菌のレンサ球菌 *Streptococcus gordonii* は口腔におけるバイオフィーム形成やそれに続く歯肉炎の発症に関与しているのみならず, 感染性心内膜炎の原因菌としても知られている. 感染性心内膜炎の発症には *S. gordonii* が免疫細胞による排除を受けずに患部で増殖する必要がある. 以前の研究で, 病原性の強い *S. gordonii* DL1 株が多形核白血球による殺菌に抵抗性があるのに対して病原性の弱い SK12 株は殺菌されやすいことが示されている. 本研究ではファゴリソソームの各種抗菌性因子に対する DL1 株と SK12 株の感受性を比較することで DL1 株が貪食細胞による殺菌を回避するメカニズムの解明を試みた. 【方法】*S. gordonii* DL1 株または SK12 株を酸性 pH に調整した RPMI-1640 培地で培養し, 2 時間後の生存率を算出した. また, DL1 株または SK12 株を様々な濃度の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> またはリゾチーム, ディフェンシン, ラクトフェリンを含む RPMI-1640 培地で培養し, 2 時間後の生存率を算出した. 【結果】DL1 株と SK12 株は共に酸性条件下でも pH4.0 までは高い生存率を維持していた. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> に対しては SK12 株の方が DL1 株よりもやや高い抵抗性を示した. しかしながら, その他の抗菌因子に対して DL1 株は SK12 株よりも高い耐性を示した. 特に酸性条件下でのリゾチームの効果は顕著であり DL1 株が抵抗性を示したリゾチームの濃度条件で SK12 株は殺菌された. 【考察】これらの結果より DL1 株はリゾチームに抵抗性を示すことでファゴリソソーム内での殺菌を回避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.

---

## *Streptococcus gordonii* DL1 escapes killing by phagocytes via resistance to lysozyme

---

○Tashiro Y<sup>1</sup>, Saiki K<sup>1</sup>, Yamanaka Y<sup>1</sup>, Ishikawa Y<sup>2</sup>, Hayashida N<sup>1</sup>, Uchikawa M<sup>1</sup>,  
Takahashi Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, <sup>2</sup>Gen Dent, Nippon Dent Univ Hosp

Purpose: *Streptococcus gordonii* is an etiological bacterial agent of infective endocarditis. Although the pathogenesis mechanisms are not well understood, we think that the resistance to phagocytes is important for the development of infective endocarditis. Previous studies showed that *S. gordonii* DL1 survived in the phagolysosomes of PMNs, whereas *S. gordonii* SK12 was sensitive to PMN-dependent killing. In this study, we investigated the mechanism of *S. gordonii* DL1 to escape killing by phagocytes. Materials & Methods: *S. gordonii* DL1 and SK12 were cultured in RPMI-1640 conditioned to acidic pH, or supplemented with hydrogen peroxide, lysozyme, defensin, or lactoferrin. The survival of *S. gordonii* was assessed by a colony-forming assay. Results & Conclusion: Both *S. gordonii* DL1 and SK12 showed high resistance to low pH condition. Compared to *S. gordonii* SK12, DL1 was a little sensitive to hydrogen peroxide. However, the resistance of *S. gordonii* DL1 to the tested bactericidal agents, especially lysozyme at acidic pH, was higher than that of SK12. These results indicated that *S. gordonii* DL1 is resistant to lysozyme at acidic pH, the condition which is similar with that of the inside of phagolysosomes.

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

---

---

## 2-PG18 歯周病原細菌感染モデルマウスを用いた神経免疫学的分析

---

○岸川 咲吏<sup>1</sup>, 永尾 潤一<sup>1,2</sup>, 豊永 憲司<sup>1</sup>, 加地 英美<sup>1</sup>, 根来香奈江<sup>1</sup>, 田崎 園子<sup>1</sup>,  
田中 芳彦<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>福歯大 機能生物 感染生物, <sup>2</sup>福歯大 口腔医学セ

---

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り、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。歯周病は難治性の慢性炎症性疾患であるため、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。最近では高齢者の重度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疾患を起しやすいたことが明らかになっている。これら精神疾患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疾患が誘導され、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神経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。

---

## Neuroimmunological analysis using the mouse model of periodontal disease

---

○Kishikawa S<sup>1</sup>, Nagao J<sup>1,2</sup>, Toyonaga K<sup>1</sup>, Kaji E<sup>1</sup>, Negoro K<sup>1</sup>, Tasaki S<sup>1</sup>, Tanaka Y<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll

---

Periodontal disease, the cause of tooth loss due to gingival inflammation and subsequent alveolar bone resorption, is one of the infectious diseases that exists in a wide range of generations from young to old. Since periodontal disease is an intractable chronic inflammatory disease, it is widely known that it affects not only oral tissues but also other organs such as the brain and heart. Recently, it has been reported that older people with severe 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.

---

---

## 2-PG19 マウスガードを用いた誤嚥性肺炎予防のための口腔ケアシステムの開発

---

○齋藤 真規<sup>1</sup>, 岩田 好弘<sup>2</sup>, 桑原 紀子<sup>1</sup>, 瀧澤 智美<sup>1</sup>, 小林 良喜<sup>1</sup>, 泉福 英信<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日大松戸歯 感染免疫, <sup>2</sup>日大松戸歯 クラウンブリッジ

---

2020年に厚生労働省の人口動態統計で誤嚥性肺炎が死因の6位と発表されており、口腔ケアの重要性が指摘されている。そこで、強力な殺菌効果を有するオゾンナノバブル水（ONW）をマウスガードに灌流して口腔環境を改善するシステムを開発することとした。ONWは強力な殺菌効果を発揮するものの、唾液の有機物で失活することやバイオフィーム内の細菌には効果がないことが知られている。そこで、歯科医療従事者によって歯垢を除去した後、速やかにマウスガードを装着し、ONWを灌流させた。灌流実験は週1回、3週連続で行われた。実験前後に唾液を採取し、次世代シーケンサーを用いて菌叢の比較解析を行った。LEfSEを用いた唾液細菌叢の群間比較解析の結果、相対的存在量に有意差があった細菌で正式な学名が付与された菌は検出できなかった。灌流実験により、*Lachnospiraceae*科およびその下位の分類階級である*Oribacterium*属、*Selenomonas*属、*Xanthomonadales*目およびその下位の分類階級である*Xanthomonadaceae*科、*Stenotrophomonas*属、さらに*Rhizobiales*目およびその下位の分類階級である*Methylobacteriaceae*科の細菌が有意に減少した。一方、実験後では*Fusobacteria*門およびその下位の分類階級である*Fusobacteriia*綱、*Fusobacteriales*目の細菌が有意に増加した。ONW灌流前に多かった細菌は日和見感染症起因菌や多剤耐性を示す菌種を含んでおり、ONWによりこれらを有意に減少させることができた。本法はオーラルフレイルや免疫不全症といった誤嚥性肺炎の高リスクの患者に対してチェアサイドで簡便にできる口腔ケアシステムになるものと考えられる。本研究はJSPS科研費JP16K20700、JP20K10299の助成を受けたものです。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Development of an oral care system using a mouthguard to prevent aspiration pneumonia

---

○Saito M<sup>1</sup>, Iwata Y<sup>2</sup>, Shinozaki-Kuwahara N<sup>1</sup>, Hashizume-Takizawa T<sup>1</sup>, Kobayashi R<sup>1</sup>, Senpuku H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>2</sup>Dept Crown Bridge Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

---

Aspiration pneumonia has been announced as the sixth leading cause of death in the demographic statistics of the Ministry of Health, Labour and Welfare in 2020, and the importance of oral care has been pointed out. Therefore, we decided to develop a system to improve the oral microbial environment by irrigating the mouthguard with ozone nanobubble water (ONW), which has a strong bactericidal effect. But ONW is known to be inactivated by organic substances in saliva and ineffective against biofilms. Therefore, after the dental plaque was removed by dental care professionals, a mouthguard was promptly fitted and perfused with ONW. Perfusion experiments were conducted once a week for three consecutive weeks. Saliva samples were collected before and after the experiment, and a comparative analysis of the bacterial flora was performed using a next-generation sequencer. *Lachnospiraceae*, *Xanthomonadales*, and *Rhizobiales* were reduced after the ONW irrigation experiment. On the other hand, *Fusobacteria* increased significantly. Bacteria that were abundant before ONW irrigation included opportunistic infection-causing bacteria and multidrug-resistant strains, which were significantly reduced by ONW. This method is expected to become a simple chairside oral care system for patients at high risk of aspiration pneumonia, such as those with oral frailty or immunodeficiency.

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

---



## 2-PG20 カンジダリシンの IL-1 $\beta$ 産生活性は可溶性に影響される

○森 大気, 片岡 嗣雄, 田邊 元, 引頭 毅

朝日大 歯 口腔微生物

*Candida albicans* の菌糸はペプチド毒素であるカンジダリシン (CL) を産生し、口腔や膣などの上皮組織を傷害することで深部組織への侵入を可能にすると考えられている。CL は高い疎水性を有するペプチドであり、細胞毒性を発揮する上で重要な特性と考えられている。またマクロファージなどに作用すると NLRP3 インフラマソームを活性化し、IL-1 $\beta$  の産生を誘導することも知られている。過去の研究では、CL の生理活性は合成ペプチドを用いて調べられてきたが、可溶性は十分に評価されないまま水溶液として調製されてきた経緯がある。本研究では、合成 CL ペプチドを水溶液 (CLw) またはジメチルスルホキシド溶液 (CLd) として調製し、可溶性、細胞毒性ならびに IL-1 $\beta$  産生活性を比較した。また NLRP3 インフラマソーム、あるいはカテプシン B の関与についても調べた。CLw は完全に可溶化されておらず不溶性微粒子を多量に含んでおり、比較的高濃度 ( $\geq 10 \mu\text{M}$ ) において細胞毒性や IL-1 $\beta$  産生活性を示した。一方、CLd は完全に可溶化されており、 $1 \mu\text{M}$  以下の低濃度でも高い活性を示した。CLw の IL-1 $\beta$  産生活性は NLRP3 とカテプシン B に依存していたが、CLd の活性はカテプシン B には依存していたが、NLRP3 には依存していなかった。CLw を可溶性画分と不溶性画分とに分画して調べたところ、NLRP3 依存的な活性は不溶性微粒子が原因していることが判明した。さらに、CLd をナノ粒子解析したところ、CL は  $96 \text{ nm}$  径のナノ粒子として存在することがわかった。CLw にもナノ粒子はみとめられたが含有量は少量であった。以上より、合成 CL ペプチドの生理活性、特に IL-1 $\beta$  産生活性は、溶媒に対する可溶性に大きく影響されることが示唆された。また NLRP3 依存的な活性は不溶性微粒子によるものであり、CL 本来の活性ではない可能性が考えられた。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### The IL-1 $\beta$ -producing activity of the synthetic candidalysin peptide is affected by solubility

○Mori T, Kataoka H, Tanabe G, Into T

Dept Oral Microbiol, Div Oral Infect Health Sci, Asahi Univ Sch Dent

Hyphae of *Candida albicans* produce a peptide toxin called candidalysin (CL), which injures epithelial tissues in the oral cavity and vagina, facilitating their invasion. CL has a hydrophobic property, which is important for exhibiting cytotoxicity. CL also activates the NLRP3 inflammasome, inducing IL-1 $\beta$  production. Previously, bioactivities of CL have been investigated using synthetic peptides. Although the solubility has not been evaluated, it has been prepared as aqueous solutions. In this study, synthetic CL peptides were prepared as aqueous solutions (CLw) or dimethyl sulfoxide solutions (CLd), and their solubility and activities were compared. CLw contained abundant insoluble particles and exhibited activities at relatively high concentrations ( $\geq 10 \mu\text{M}$ ). CLd was completely solubilized and showed higher activities at low concentrations ( $\leq 1 \mu\text{M}$ ). The IL-1 $\beta$ -producing activity of CLw was dependent on NLRP3, whereas that of CLd was not. Fractionation of CLw revealed that the NLRP3-dependent activity was due to insoluble microparticles. Nanoparticle tracking analyses showed that CL was present as nanoparticles in CLd, but such nanoparticles were not abundantly found in CLw. Thus, the IL-1 $\beta$ -producing activity of CL is strongly influenced by their solubility. The NLRP3-dependent activity may be due to the insoluble microparticles and not the intrinsic activity of CL.

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

---

## 2-PG21 *Porphyromonas gingivalis* ジンジパインによる COX-2 発現と PGE2 産生におけるホスホリパーゼの役割

---

○中山 真彰<sup>1,2</sup>, 内藤真理子<sup>3</sup>, 中山 浩次<sup>3</sup>, 大原 直也<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 口腔微生物, <sup>2</sup>岡大 歯先端研セ (ARCOCS), <sup>3</sup>長大 院医歯薬 口腔病原微生物

---

*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。単球系細胞を用いた *Pg* 感染実験から、*Pg* の病原因子ジンジパインが COX-2 発現や PGE2 産生を起こすことを明らかにし、これには宿主細胞外から流入する細胞内カルシウム濃度上昇が重要であることを示した。本会では、単球系細胞株 THP-1 における細胞内カルシウム濃度上昇に関連する因子であるホスホリパーゼ C (PLC) に着目して、ジンジパインによる COX-2 発現と PGE2 産生における PLC の関与について調べたので報告する。PLC 阻害剤 U73122 とその陰性コントロール化合物である U73343 を用いて、ジンジパインによる COX2 発現と PGE2 産生に対する PLC の関与について調べた。またジンジパインによる COX-2 発現の上流因子である ERK/AP-1 と IKK/NF- $\kappa$ B の 2 経路に及ぼす PLC の関与についても調べた。その結果、THP-1 細胞における *Pg* 感染による COX-2 発現と PGE2 産生は U73122 の濃度依存的に減少し、U73122 未処理および U73343 処理では COX-2 発現と PGE2 産生にほとんど抑制効果は認められなかった。*Pg* 感染による ERK と IKK の活性化は、U73122 未処理と比べて U73122 処理によって抑制された。また ERK が制御する c-Fos と c-Jun の発現誘導とリン酸化活性も同様に U73122 処理によって抑制された。したがって、*Pg* 感染におけるジンジパインによる COX2 発現と PGE2 産生には PLC の関与が示され、PLC の活性化は細胞外の Ca<sup>2+</sup>流入にも関わっている可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### The role of phospholipase on *Porphyromonas gingivalis* gingipains-induced COX-2 expression and PGE2 production

---

○Nakayama M<sup>1,2</sup>, Naito M<sup>3</sup>, Nakayama K<sup>3</sup>, Ohara N<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Microbiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup>ARCOCS, Okayama Univ Dent Sch, <sup>3</sup>Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

---

*Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) is an oral bacterium involved in chronic periodontitis. In periodontitis, COX-2 expression and PGE2 production are observed. In monocytic cells with *Pg* infection, we indicated that gingipains from *Pg* causes COX-2 expression and PGE2 production and that intracellular calcium influx from extracellular fluid is required for these events. In this study, we show the involvement of phospholipase C (PLC) in COX-2 expression and PGE2 production by gingipains in the monocytic cell line THP-1. We studied the involvement of PLC in gingipains-induced COX-2 expression and PGE2 production and also investigated its involvement of two pathways, ERK and IKK, which are upstream factors of gingipains-induced COX-2 expression, by using the PLC inhibitor U73122 and its negative compound U73343. The results showed that COX-2 expression and PGE2 production by *Pg* infection were reduced in a concentration-dependent manner by U73122, while U73343 had little inhibitory effect on these events. U73122 suppressed activation of ERK and IKK by *Pg* infection and ERK-regulated expression and phosphorylation of c-Fos and c-Jun. Collectively, we demonstrated the involvement of PLC in COX-2 expression and PGE2 production by gingipains in *Pg* infection.

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

---

---

## 2-PG22 歯周病原細菌由来 LPS の細胞内認識機構の解析

---

○片岡 嗣雄, 森 大気, 田邊 元, 引頭 毅

朝日大 歯 口腔微生物

---

グラム陰性菌の外膜成分であるリポ多糖 (LPS) は宿主細胞表面において Toll-like receptor 4 (TLR4) によるパターン認識を受け、炎症応答を誘導する。一方、サルモネラ属菌などの細胞侵入性グラム陰性菌の LPS は IFN 誘導性因子であるグアニル酸結合タンパク質 (GBP) 1 によって細胞質内での認識を受けることが近年明らかになってきている。GBP1 は non-canonical なインフラマソーム活性化経路を介して caspase-4 を活性化し、IL-18 産生やパイロトーシスを誘導することが知られている。これまで歯周病原細菌の LPS は TLR4 による認識を受けると考えられてきたが、GBP1 による認識を受けうるかどうかは不明である。本研究では、*Porphyromonas gingivalis* 菌体から精製された LPS (LPS-PG)、あるいは *P. gingivalis* の培養上清から分離した外膜小胞 (OMV) を用い、これらが caspase-4 経路を活性化しうるかどうかについて検討した。LPS-PG を IFN- $\gamma$  でプライミングしたヒト単球系細胞株 THP-1 に作用させても caspase-4 活性化や IL-18 産生は誘導されなかったが、リポフェクション試薬を用いて LPS-PG を細胞内へ導入した場合には caspase-4 活性化ならびに IL-18 産生が誘導されることがわかった。また OMV を作用させた場合には、リポフェクション試薬を用いなくても caspase-4 活性化が誘導されることがわかった。我々の実験結果から、歯周病原細菌の LPS は細胞表面における認識を受けだけでなく、OMV として細胞に作用した場合には細胞内でも認識を受け、caspase-4 を介した炎症応答を誘導する可能性が示唆された。この認識機構における GBP1 の関与についても併せて報告する予定である。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Analysis of the intracellular recognition of LPS derived from periodontopathic bacteria

---

○Kataoka H, Mori T, Tanabe G, Into T

Dept Oral Microbiol, Div Oral Infect Health Sci, Asahi Univ Sch Dent

---

Lipopolysaccharide (LPS), an outer membrane component of Gram-negative bacteria, undergoes pattern recognition by Toll-like receptor 4 (TLR4) on the cell surface, leading to induction of inflammatory responses. It has recently been shown that LPS derived from cell-invasive Gram-negative bacteria such as *Salmonella* spp. can be intracellularly recognized by the IFN-inducible factor guanylate-binding protein (GBP) 1. GBP1 activates the non-canonical inflammasome pathway to induce caspase-4 activation, which drives IL-18 production and pyroptosis. To date, LPS derived from periodontopathic bacteria is thought to be recognized by TLR4, but whether they can be recognized by GBP1 is unclear. In this study, we investigated whether LPS purified from *Porphyromonas gingivalis* (LPS-PG) or outer membrane vesicles (OMVs) isolated from *P. gingivalis* culture supernatants could activate the caspase-4 pathway. LPS-PG stimulation did not induce caspase-4 activation and IL-18 production in the human monocytic cell line THP-1 primed with IFN- $\gamma$ , whereas intracellular introduction of LPS-PG using a lipofection reagent could induce caspase-4 activation and IL-18 production. OMV could induce caspase-4 activation even in the absence of a lipofection reagent. Our results suggest that, when stimulating cells as OMVs, periodontopathic bacterial LPS undergoes recognition not only at the cell surface, but also intracellularly, inducing a caspase-4-mediated inflammatory response.

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

---

---

## 2-PG23 抗菌ペプチド LL-37 は口腔細菌由来の DNA と結合して分解耐性の複合体を形成する

---

○田邊 元, 片岡 嗣雄, 森 大気, 引頭 毅

朝日大 歯 口腔微生物

---

**【緒言】** 口腔領域の自然免疫系では種々の抗菌ペプチドが感染防御に貢献する。LL-37 はカテリシジンファミリーに属する抗菌ペプチドであり、病原体への最前線での防御作用を発揮するだけでなく、様々な免疫調整作用も有する。LL-37 は核酸結合能を有し、宿主ゲノム DNA やミトコンドリア DNA との間で DNase 分解耐性の複合体を形成し、DNA 認識受容体を刺激すると考えられている。このような複合体の蓄積は炎症を遷延化させ、乾癬やアテローム性動脈硬化の原因となる可能性が示唆されているが、口腔領域における役割は未だ知られていない。本研究では、口腔領域における LL-37 の核酸結合能の役割の解明を目的として、口腔細菌由来 DNA との複合体形成能ならびに複合体の DNase 分解耐性について調べたので報告する。

**【方法】** 口腔細菌の DNA は培養した菌株から精製した。LL-37 と DNA とを様々な比率で混合し、37°C で反応させた。複合体形成は DNA 結合性蛍光色素の蛍光強度によって評価し、またアガロースゲル電気泳動で分子量の変化を確認した。複合体は DNaseI または DNaseII と反応させ、DNA の蛍光強度と電気泳動像により分解耐性を評価した。

**【結果】** 細菌由来 DNA は LL-37 の量依存的に蛍光色素の蛍光強度が低下したことから、DNA と LL-37 との結合により蛍光色素の結合が阻害されることが示唆された。アガロース電気泳動では、複合体形成に伴う明らかな分子量の変化が観察された。また本複合体は DNase による分解に耐性をもつことが明らかになった。

**【考察】** LL-37 は口腔細菌由来 DNA と結合して分解耐性の複合体を形成する。歯垢形成はこのような複合体を巻き込みながら起こる可能性が考えられる。今後、菌種による複合体形成能の違いや免疫刺激性などについても検討する予定である。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Antimicrobial peptide LL-37 binds to oral bacterial DNA to form degradation-resistant complexes

---

○Tanabe G, Kataoka H, Mori T, Into T

Dept Oral Microbiol, Div Oral Infect Health Sci, Asahi Univ Sch Dent

---

In the innate immune system of the oral cavity, various antimicrobial peptides contribute to infection protection. LL-37, a member of the cathelicidin antimicrobial peptides, not only exerts front-line defense against pathogens, but also has various immunomodulatory activities. LL-37 can form DNase degradation-resistant complexes with host genomic DNA or mitochondrial DNA, stimulating DNA recognition receptors. Accumulation of such complexes is thought to cause prolonged inflammation, which contributes to psoriasis and atherosclerosis, but their role in the oral cavity is not yet known. In this study, to elucidate the role of nucleic acid-binding ability of LL-37 in the oral cavity, we investigated its ability to form complexes with oral bacterial DNA and the DNase degradation resistance of the complexes. LL-37 decreased the fluorescence intensity of oral bacterial DNA in a dose-dependent manner, suggesting that LL-37 binding to DNA interferes with the DNA binding to the fluorescent agent. Electrophoresis revealed a clear change in molecular weight associated with the complex formation. The complex was found to be resistant to degradation by DNase. Thus, LL-37 binds to oral bacterial DNA to form complexes resistant to DNase degradation. Dental plaque formation may proceed while interacting with such complexes.

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

---



---

## 2-PG24 Ti-Au 合金と Ti-Cu 合金のバイオフィーム形成抑制能

---

○高橋 正敏<sup>1</sup>, 多田 浩之<sup>2</sup>, 高田 雄京<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大 院歯 歯科生体材料, <sup>2</sup>東北大 院歯 口腔分子制御

---

**【目的】** 歯科用 Ti-Ag 合金は殺菌せずに合金表面へのバイオフィーム形成を抑制する性質を示した。この性質は常在細菌叢の変化を起こさない点で、Ag イオンによる殺菌より優れた抗菌と言える。他の Ti 合金もこの性質を示す可能性を考え、本研究では Ti-Au 合金と Ti-Cu 合金を試作し、そのバイオフィーム形成抑制能を評価した。**【方法】** Ti-10% Au, 20% Au 合金と、Ti-5% Cu, 10% Cu 合金を設計した。アルゴンアーク溶解炉で合金を溶製し、熱間鍛造と熱間圧延した後に、板状に切り出して試料とした。試料を真空熱処理し、熱処理前後の金属組織を観察した。バイオフィーム形成試験では、各試料をスクロース含有 TS 液体培地に浸漬し、*Streptococcus mutans* もしくは *Streptococcus sobrinus* を加え、嫌気培養した。表面に形成されたバイオフィーム量を懸濁液の濁度から推定した。殺菌試験は JIS Z 2801 試験法に準じて行った。試験後の生菌数を求め、抗菌活性値により殺菌作用の有無を判定した。**【結果・考察】** いずれの試料にも熱処理前には Ti<sub>3</sub>Au や Ti<sub>2</sub>Cu といった金属間化合物が多量に認められたが、熱処理後には消失して  $\alpha$  単相になった。いずれの合金も *S. mutans* に対してバイオフィーム形成抑制能を示した。しかし、Ti-10% Au 合金と Ti-5% Cu 合金には *S. sobrinus* に対してバイオフィーム形成抑制能が認められなかった。また、いずれの合金も殺菌作用を示さなかった。ただし、Ti-Cu 合金の生菌数は Ti より少なかった。Ti-Cu 合金は他の合金よりも表面粗さが小さく、かつ、生菌数が減少したにも関わらず、バイオフィーム量があまり減らなかった。したがって、Cu は Ti にバイオフィーム形成抑制能を与える効果が低いと考えられる。一方、Ti-Au 合金では生菌数の減少を伴わずにバイオフィーム量が減少した。Ti にバイオフィーム形成抑制能を与える添加元素として Au は期待できる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### The inhibitory properties of Ti-Au and Ti-Cu alloys on biofilm formation

---

○Takahashi M<sup>1</sup>, Tada H<sup>2</sup>, Takada Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Dent Biomater, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

Ti-20% Ag alloy has the ability to suppress biofilm formation. This attribute is unique and different from bactericidal action. The exact mechanism is unknown. Since it is different from the bactericidal effect associated with Ag ions, it is likely that use of other elements other than Ag can impart this property to Ti. To test whether other alloys had the ability to suppress biofilm formation; Ti-10% Au, 20% Au, 5% Cu, and 10% Cu alloys were prepared in this study. Biofilm formation and bactericidal tests were done using *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. It was noted that Ti-Au alloys suppressed biofilm formation with negative bactericidal effect. On the other hand, the Ti-Cu alloys suppressed biofilm formation by *S. mutans*, but not by *S. sobrinus*. Furthermore, Ti-Cu alloys also did not demonstrate bactericidal properties even though the number of surviving bacteria was lower than that of titanium. Therefore, alloying Ti with Au has good potential of inhibiting biofilm growth whereas Cu has poor ability to suppress biofilm formation.

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

---

---

## 2-PG25 Ti-Pt 合金と Ti-Nb 合金のバイオフィーム形成抑制能

---

○高田 雄京<sup>1</sup>, 多田 浩之<sup>2</sup>, 高橋 正敏<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大 院歯 歯科生体材料, <sup>2</sup>東北大 院歯 口腔分子制御

【目的】我々の開発した歯科用 Ti-Ag 合金は、材料表面へのバイオフィーム形成を抑制する性能を有している。殺菌作用を示さずにバイオフィーム形成を抑制するこのユニークな機能は、生体に安全な抗菌と考えている。そのメカニズムは不明であるが、Ag イオンによる抗菌とは異なるため、Ag 以外の合金化元素でも Ti にこの性質を与えられる可能性がある。そこで本研究では Ti-Pt 合金と Ti-Nb 合金を試作し、そのバイオフィーム形成抑制能を評価した。【方法】Ti-10% Pt, 20% Pt 合金と、Ti-20% Nb, 30% Nb 合金を設計した。アルゴンアーク溶解炉でインゴットを溶製し、熱間鍛造と熱間圧延した試料から、板状の試験片を切り出した。試験片を真空熱処理し、熱処理前後の金属組織を調べた。また、研磨した試験片の硬さと表面粗さを調べた。バイオフィーム形成試験では、各試験片をスクロース含有 TS 液体培地に浸漬し、*Streptococcus mutans* もしくは *Streptococcus sobrinus* を加え、嫌気培養した。表面に形成されたバイオフィーム量を懸濁液の濁度から推定した。殺菌試験は JIS Z 2801 試験法に準じ、リン酸緩衝液に懸濁した微生物を、各試験片の表面上で好気培養した。2 時間後に微生物を回収し、生菌数を求め、抗菌活性値により殺菌作用の有無を判定した。【結果・考察】Ti-Pt 合金には熱処理前に  $\alpha$  マトリックス中に  $Ti_3Pt$  が多量に認められた。10% Pt では熱処理後に  $Ti_3Pt$  が消失したが、20% Pt では残存した。一方、熱処理前に  $\alpha + \beta$  だった Ti-Nb 合金は、20% Nb では熱処理後も  $\alpha + \beta$  だったが、30% Nb では  $\beta$  になった。Ti-Pt 合金と Ti-Nb 合金はともに、どちらの細菌に対してもバイオフィーム形成抑制能を示した。そして、殺菌試験では、いずれの合金の抗菌活性値も殺菌作用を示さなかった。30% Nb は  $\beta$  化して硬さが下がり、表面粗さが大きかったにも関わらず、バイオフィーム量が大きく減少したので、バイオフィーム形成抑制能が高いと考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## The inhibitory properties of Ti-Pt and Ti-Nb alloys on biofilm formation

---

○Takada Y<sup>1</sup>, Tada H<sup>2</sup>, Takahashi M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Dent Biomater, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

Titanium alloyed with Silver (Ti-20% Ag) is known to have the ability to suppress biofilm formation. Inhibition of biofilm formation without being bactericidal is a distinct and unique attribute. The mechanism of action is unknown but appears different from the bactericidal action associated with Ag ions. There is a possibility that use of Ti with other alloying elements besides Ag could exhibit this property. Ti-10% Pt, 20% Pt, 20% Nb, and 30% Nb alloys were prepared in this study for use in determination of any inhibitory properties. Tests to check Biofilm growth and bactericidal effect on *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* colonies were conducted. All the alloys did not have a bactericidal action but suppressed the growth of biofilm. There was a significant decrease in biofilm formation in the experiment set up that involved Ti-30% Nb alloy whose surface roughness is very high and would therefore be associated with high biofilm adhesion and retention. This study demonstrated that both Pt and Nb have the ability to deter biofilm formation when alloyed with Ti. However, Ti-30% Nb shows exceptional inhibitory properties despite the high surface roughness.

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

---

## 2-PG26 *Porphyromonas gingivalis* の新規遺伝子型 Mfa1 線毛の構造と構成因子の抗原性解析

○藤本実結菜<sup>1</sup>, 内記 良一<sup>2</sup>, 榮 宏太郎<sup>2</sup>, 三輪 尚慶<sup>1</sup>, 永野 恵司<sup>3</sup>, 名和 弘幸<sup>1</sup>, 長谷川義明<sup>2</sup>

<sup>1</sup>愛院大 歯 小児歯, <sup>2</sup>愛院大 歯 微生物, <sup>3</sup>北医療大 歯 微生物

【目的】歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* が持つ Mfa1 線毛は, Mfa1 から Mfa5 の 5 つのタンパク質より構成される. 主要成分をコードする *mfa1* には 3 種類の遺伝子型 (*mfa1*<sup>70A</sup>, *mfa1*<sup>70B</sup> 及び *mfa1*<sup>53</sup>型) が存在するが, それらの特徴は不明である. そこで本研究では各々の遺伝子型による Mfa1 線毛の構造や抗原性の違いを解析し, Mfa3-5 の発現及び抗原性を検討することを目的とした. 【方法】*mfa1* 型の異なる JI-1 株 (ATCC 33277 株由来 *fimA* 欠損株, *mfa1*<sup>70A</sup>型), 1439 株 (*mfa1*<sup>70B</sup>型) および Ando 株 (*mfa1*<sup>53</sup>型) を用いた. 各々の菌株から線毛を精製し, 精製物を SDS-PAGE にて展開しバンドパターンを比較, ウェスタンブロットを行なった. それぞれの株の精製線毛を透過型電子顕微鏡像により観察した. さらに, *mfa1*<sup>70B</sup>型の株を含む 15 株の *P. gingivalis* において, Filtration ELISA にて菌体表面の線毛発現量を解析した. 【結果と考察】抗 Mfa1<sup>70A</sup>抗血清, 抗 Mfa1<sup>70B</sup>抗血清, 抗 Mfa1<sup>53</sup>抗血清を用いたウェスタンブロットでは, それぞれの遺伝子型の Mfa1 が特異的に検出された. 抗 Mfa3-5 抗血清を用いたウェスタンブロットでは, JI-1 株および 1439 株の精製線毛で Mfa3-5 が検出されたが, Ando 株は薄く検出されるか, 検出限界以下であった. 透過型電子顕微鏡像で 3 株の構造に明らかな違いはみられなかった. また, Filtration ELISA より 1439 株を含むいくつかの *mfa1*<sup>70B</sup>株において菌体表面に線毛が発現していることが確認された. 以上の結果から, *mfa1*<sup>70A</sup>, *mfa1*<sup>70B</sup>及び *mfa1*<sup>53</sup>型の線毛では抗原性が異なることが明らかになった. また, Mfa3-5 においても遺伝子型によって抗原性が異なることが考えられた.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

## Structural and antigenic characterization of novel genotype of Mfa1 fimbriae in *Porphyromonas gingivalis*

○Fujimoto M<sup>1</sup>, Naiki Y<sup>2</sup>, Sakae K<sup>2</sup>, Miwa N<sup>1</sup>, Nagano K<sup>3</sup>, Nawa H<sup>1</sup>, Hasegawa Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Pediatr Dent, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Microbiol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>3</sup>Div Microbiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

[Purpose] Mfa1 fimbriae of the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* comprise five proteins, Mfa1-Mfa5. *mfa1* has three genotypes (*mfa1*<sup>70A</sup>, *mfa1*<sup>70B</sup>, and *mfa1*<sup>53</sup>). However, their characteristics are unknown. In this study, we analyzed the difference in the antigenicity of Mfa1 fimbria depending on each genotype and investigated the expression and antigenicity of Mfa3-5. [Subjects and methods] JI-1 (*mfa1*<sup>70A</sup>), 1439 (*mfa1*<sup>70B</sup>), and Ando (*mfa1*<sup>53</sup>) strains were used in the study. Fimbriae were purified from each strain and their components and antigenicity were compared by SDS-PAGE and western blotting. The purified fimbriae were observed and photographed using a transmission electron microscope. Furthermore, the expression levels of fimbriae on the cell surface were analyzed by Filtration ELISA. [Results and discussion] Western blotting specifically detected each genotype of *mfa1*. Mfa3-5 were detected in the purified fimbriae of JI-1 and 1439 but not in that of Ando in western blotting. No differences in fimbrial structure were observed. Fimbriae were expressed on the surface of several strains of *mfa1*<sup>70B</sup> genotype. In conclusion, the antigenicity of Mfa1 with different *mfa1* genotypes was different. It was also considered that the antigenicity of Mfa3-5 differs depending on the genotype.

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

---

## 2-PG27 DL1 株と結合領域の類似性が低い Hsa アドヘジンホモログを発現する *Streptococcus gordonii* 株の赤血球凝集特性

---

○石川 結子<sup>1</sup>, 田代有美子<sup>2</sup>, 山中 幸<sup>2</sup>, 才木桂太郎<sup>2</sup>, 林田 尚斗<sup>2</sup>, 内川真由美<sup>2</sup>,  
高橋 幸裕<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日歯大病院 総診, <sup>2</sup>日歯大 生命歯 微生物

*Streptococcus gordonii* DL1 株の Hsa アドヘジンは、シアロ複合糖鎖に特異的に結合する赤血球凝集素として同定され、結合領域である NR2 領域を介して、唾液ムチンなどの宿主糖タンパク質のシアル酸末端に強く結合することから、重要な病原因子としての役割を担っていると考えられている。我々は最近、抗 Hsa 抗血清や抗 NR2 抗血清の交差反応性を、健常人の口腔内から分離したレンサ球菌の野生株と DL1 株間で検証し、Hsa ホモログを細菌表面に発現する頻度 (93%) と NR2 抗原性を示す頻度 (64%) が共に *S. gordonii* 株で最も高いことを示した。また NR2 陽性菌株のほとんどが DL1 株の NR2 領域の推定アミノ酸と高い相同性を示し、更に DL1 株と同様の赤血球凝集 (HA) 活性を示した。本研究では、Hsa 陽性だが NR2 抗原性が低い *S. gordonii* の野生株 NDU1118 の Hsa ホモログと DL1 株 Hsa との類似性、およびそのホモログの HA 活性との関連性を検証した。NDU1118 株の *hsa* ホモログの DNA 塩基配列はロングリードの次世代シーケンサーを用いて決定した。また NDU1118 株の *hsa* の 5' 領域を薬剤耐性遺伝子と置換した *hsa* 欠失変異体を作製し、ヒト赤血球に対する HA 活性を評価した。DNA 解析から NDU1118 株の NR2 領域のアミノ酸配列は、GspB として知られる *S. gordonii* M99 株の Hsa ホモログとほぼ同一であり、DL1 株の Hsa との相同性は低いことが明らかになった。また NDU1118 株の *hsa* 欠失変異体はその野生株と比べて低い HA 活性を示したが、その HA 活性は赤血球のノイラミニダーゼ処理により増加し、ラクトースにより阻害された。以上の結果、NDU1118 株は Hsa ホモログとして GspB ホモログを発現しており、更にラクトース糖鎖に結合する新規のアドヘジンも発現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。

---

### Hemagglutinating properties of a *Streptococcus gordonii* strain expressing Hsa adhesin homology with low binding site similarity to that of strain DL1

---

○Ishikawa Y<sup>1</sup>, Tashiro Y<sup>2</sup>, Yamanaka Y<sup>2</sup>, Saiki K<sup>2</sup>, Hayashida N<sup>2</sup>, Uchikawa M<sup>2</sup>,  
Takahashi Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Gen Dent, Nippon Dent Univ Hosp, <sup>2</sup>Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

The Hsa adhesin of *Streptococcus gordonii* strain DL1 was previously identified as a hemagglutinin that specifically binds to sialoglycoconjugates via NR2, a putative binding site of Hsa. We recently found that clinically isolated *S. gordonii* strains most frequently express Hsa and NR2 homologs on the bacterial cell surface among oral streptococcal species. Furthermore, most of these NR2 are nearly identical to that of DL1, and most of these NR2-positive strains shows high hemagglutinating (HA) activity like DL1. The aim of this study was to characterize a clinically isolated *S. gordonii* strain NDU1118 that expressed a Hsa homologue but showed the low NR2 antigenicity. The *hsa* homolog of NDU1118 was sequenced using a long-read next-generation sequencer. The HA activity was assessed with human erythrocytes. The deduced NR2 amino acid sequence of the NDU1118 was almost identical to that of the *S. gordonii* M99 Hsa homolog, also known as GspB, and less similar to that of DL1 Hsa. The *hsa* mutation of NDU1118 reduced HA activity in untreated erythrocytes, but surprisingly increased lactose-inhibitable HA activity in neuraminidase-treated erythrocytes. These results suggest the existence of an adhesin other than the Hsa homolog on the cell surface of NDU1118.

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

---



---

## 2-PG28 *Candida albicans* に対するヒノキチオールの抗真菌作用—germ tube 形成と活性酸素産生に着目して—

---

○福井佳代子<sup>1</sup>, 仲村健二郎<sup>1</sup>, 原 基<sup>1</sup>, 二宮 一智<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>日歯大新潟 薬理, <sup>2</sup>日歯大 新潟病院 総合診療, <sup>3</sup>日歯大 新潟病院 口腔外科診療

---

**【目的】**近年, 薬剤耐性の問題が注視されている. 抗真菌薬は種類や数が少なく, 耐性発現時に薬の選択に苦慮することとなる. そこで, 既存薬とは系列の異なる精油類ヒノキチオールの抗真菌作用および作用機序となる germ tube 形成と活性酸素の産生について調べる. **【方法】**微量液体希釈法においてヒノキチオールの *Candida albicans*40009 標準株に対する抗真菌作用を調べた. また, *C. albicans* の germ tube 形成に対するヒノキチオールの抗真菌作用を 37°C で振盪培養し, 経時的に調べた. また, ヒノキチオール及びミコナゾールによる *C. albicans* 細胞の活性酸素産生を ROS Assay Kit を用いて蛍光プレートリーダーで測定した. **【結果】**微量液体希釈法において, ヒノキチオールは *C. albicans* に対して濃度依存的に抗真菌作用を示した. また, ヒノキチオール 3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  は 24 時間後も germ tube 形成を示さなかった. ヒノキチオール及びミコナゾールは, 単独および併用において活性酸素産生を高めた. **【考察】**ヒノキチオール 3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  は 24 時間後も germ tube 形成を示さなかったことより, *C. albicans* の酵母型細胞から菌糸型への転換を抑制すると考えられる. ヒノキチオール及びミコナゾールは, 各々が単独で活性酸素産生を高め, またその組合せで相乗効果が明らかとなり, 今後プロオキシダントとして医療の応用に期待できる. 本研究により, ヒノキチオールが *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 activity of hinokitiol against *Candida albicans* with focus on germ tube formation and reactive oxygen species production

---

○Fukui K<sup>1</sup>, Nakamura K<sup>1</sup>, Hara H<sup>1</sup>, Ninomiya K<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>2</sup>Comprehensive Dent, Niigata Hosp, Nippon Dent Univ, <sup>3</sup>Oral Maxillofac Surg, Niigata Hosp, Nippon Dent Univ

---

**Introduction:** Antifungal drug resistance has recently become a cause for concern. Since there are relatively few types of antifungal drugs, it is difficult to select one when resistance develops. Therefore, we aim to investigate the antifungal effect of the hinokitiol. **Materials & Methods:** The antifungal effect of hinokitiol on the *Candida albicans* strain, through the microbroth dilution method, and its inhibitory effect on germ tube formation were investigated. Moreover, the production of reactive oxygen species in *C. albicans* by hinokitiol and/or miconazole was examined using ROS Assay Kit. **Results:** In the microbroth dilution method, hinokitiol showed a concentration-dependent antifungal activity on *C. albicans*, and a sub-MIC of 3  $\mu\text{g}/\text{mL}$  hinokitiol showed no germ tube formation after 24 hours. Additionally, hinokitiol, both alone and in combination miconazole, increased reactive oxygen species production. **Discussion:** Hinokitiol strongly suppressed the conversion of *C. albicans* from yeast-type to hyphal cells. Furthermore, hinokitiol and miconazole together increased ROS production and exhibited a synergistic antifungal effect against *C. albicans*. This study revealed that hinokitiol has promising antifungal activity and can be applied to medical therapy along with pro-oxidants in the future.

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

---

## 2-PG29 口腔細菌間ネットワークが口臭成分メチルメルカプタンの産生を促進する

○原 武史<sup>1,2</sup>, 久保庭雅恵<sup>3</sup>, 坂中 哲人<sup>3</sup>, 天野 敦雄<sup>3</sup>

<sup>1</sup>阪大 院薬 先端化粧品, <sup>2</sup>株式会社マンダム 基盤研, <sup>3</sup>阪大 院歯 予防歯

**【目的】** 口腔細菌間相互作用が口臭物質でもある CH<sub>3</sub>SH の発生にどのように影響するのかについては不明である。本研究では、代表的な口腔細菌を用いて、菌体間相互作用が CH<sub>3</sub>SH 産生に及ぼす影響とその分子機構について解析した。

**【方法】** *A. naeslundii*, *S. gordonii* (Sg), *F. nucleatum* (Fn), *F. alocis*, *P. intermedia*, *P. gingivalis* を用い、嫌気条件下での単培養、および 2 菌種共培養で発生する揮発性物質を培養フラスコより回収し、産生された CH<sub>3</sub>SH を GC-FPD で定量した。Fn 野生株と Sg (野生株およびアルギニン/オルニチン対向輸送体欠損  $\Delta arcD$  株) については、単培養、および 2 菌種共培養条件下での培養上清を 0, 6, 12 時間で回収し、菌体外に放出された代謝物を UPLC で定量した。また、[<sup>13</sup>C<sub>5</sub>, <sup>15</sup>N] L-メチオニンを用いて、Sg 野生株との共培養下での Fn の菌体内代謝物の動態を CE-MS で解析した。

**【結果と考察】** Fn にメチオニンを基質として代謝させた場合、最も高い CH<sub>3</sub>SH 産生能を示した。また、Fn の CH<sub>3</sub>SH 産生量は、Sg が共存すると 2.8 倍に増加した (p < 0.001)。さらに、Fn-Sg 野生型と Fn-Sg  $\Delta arcD$  の共培養上清の代謝物分析から、CH<sub>3</sub>SH 生成には Sg から放出されるオルニチンとその脱炭酸反応によって生じるポリアミン類が必要であることが示された。また、[<sup>13</sup>C<sub>5</sub>, <sup>15</sup>N] L-メチオニンを用いた Fn 菌体内代謝動態解析から、ポリアミン類が脱炭酸型 S-アデノシルメチオニンから 5'-メチルチオアデノシンを生成する反応に必要であり、その下流に位置するメチオニンサルベージ経路を CH<sub>3</sub>SH 産生を伴いつつ回転させていることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にあります。

## Interspecies chemical communication between oral bacteria enhances the generation of volatile methyl mercaptan

○Hara T<sup>1,2</sup>, Kuboniwa M<sup>3</sup>, Sakanaka A<sup>3</sup>, Amano A<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Adv Cosmet Sci, Osaka Univ Grad Sch Med, <sup>2</sup>Fundamental Res Inst, Mandom corp, <sup>3</sup>Dept Prevent Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent

**Purpose:** We investigated the influences of bacterial interactions on CH<sub>3</sub>SH production and its molecular mechanisms using representative oral bacteria.

**Methods:** Using six species, CH<sub>3</sub>SH produced under anaerobic conditions in mono-cultures and in co-cultures of dual species were quantitated by GC-FPD. For *F. nucleatum* (Fn)-*S. gordonii* (Sg), the combination that was most effective in enhancing CH<sub>3</sub>SH production by co-culturing, culture supernatants were collected overtime under mono-culture and dual species co-cultures including Fn-Sg WT and Fn-Sg  $\Delta arcD$  conditions, then metabolites secreted from the bacterial cells were determined by UPLC. The kinetics of metabolites in Fn cells under co-culturing with Sg WT were analyzed by CE-MS using [<sup>13</sup>C<sub>5</sub>, <sup>15</sup>N] L-methionine.

**Results and Discussion:** The highest CH<sub>3</sub>SH production capacity was observed when Fn was metabolized with methionine as a substrate. Interestingly, the CH<sub>3</sub>SH production of Fn increased 2.8-fold when Sg was coexisted (p < 0.001). In addition, metabolite analysis of co-culture supernatants of Fn-Sg WT and those of Fn-Sg  $\Delta arcD$  suggested that ornithine excreted from Sg and its decarboxylated derivatives, polyamines, are required for the CH<sub>3</sub>SH production. Furthermore, the metabolic kinetics of Fn revealed that polyamines are essential for the reaction that produces 5'-methylthioadenosine from decarboxylated S-adenosylmethionine, which rotates the downstream methionine salvage pathway with CH<sub>3</sub>SH production.

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest.

---

## 2-PG30 S-PRG フィラーから放出されるイオンが *Streptococcus pneumoniae* に及ぼす抗菌効果

---

○田村 宗明<sup>1,2</sup>, 今井 健一<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 感免, <sup>2</sup>日大 総歯研 生体防御

---

【目的】肺炎球菌は呼吸器感染症の主な原因菌であり小児や高齢者および糖尿病・呼吸器疾患などの基礎疾患をもつ患者において重症化する可能性が高い。この菌は口腔からも検出されることから口腔内の菌数を減らすことが発症予防に重要となる。そのためには口腔ケアが必要となるが、多くの口腔ケア剤は耐性菌出現などの問題が報告されていることから、長期間使用できる新しい抗菌作用を有する成分の開発が急務となっている。今回、6種類のイオンを放出するS-PRGフィラーが肺炎球菌に及ぼす抗菌効果について検討した。【方法】試料としてS-PRGフィラーを蒸留水に24時間浸漬した上清（S-PRGエリユート）を使用した。被験菌には肺炎球菌の4菌株（ATCC49619株、TIGR4株、6303株および6305株）を供試した。S-PRGエリユートを培地に添加後、菌を接種して24時間培養後の培地濁度を測定し発育抑制効果を観察した。次にこの菌の病原因子のひとつである溶血能について、培養後の上清とヒツジ赤血球を用いて比濁法で抑制効果を評価した。さらにこの溶血能と最も関連する酵素 pneumolysin (ply) の遺伝子発現量への影響について、real-time PCR法にて検討した。【結果及び考察】S-PRGエリユートは濃度依存的に4菌株すべての発育および溶血能を抑制した。さらに、S-PRGエリユートはply遺伝子の発現量を減少させていた。以上の結果より、S-PRGフィラーから放出されるイオンは肺炎球菌の発育および病原性を抑制することが明らかとなった。（学会会員外協力者 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。

---

### Antimicrobial effect of S-PRG filler ionized water on *Streptococcus pneumoniae*

---

○Tamura M<sup>1,2</sup>, Imai K<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Immunol Pathobiol Res Cent, Nihon Univ Sch Dent

---

*Streptococcus pneumoniae* is a major cause of respiratory tract infections and is reported to cause severe illness among children, elderly, and patients with underlying diseases. This bacterium can be detected in the oral cavity, thus, it is important to reduce the number of bacteria in the oral cavity. However, many oral care agents have raised issues (such as the emergence of resistant bacteria), and there is an urgent need to develop new ingredients with new antimicrobial activity that can be used for prolonged period of time. We investigated the antimicrobial effect of S-PRG filler on *S. pneumoniae* using the S-PRG filler ionized water as a sample. Four strains of *S. pneumoniae* were employed, and sample effects on growth were evaluated using the turbidity method. Moreover, hemolytic capacity was evaluated using sheep erythrocytes. In addition, the effect on pneumolysin (ply) gene expression, which is most relevant to hemolytic capacity, was measured by real-time PCR. Samples showed concentration-dependent suppression of growth, hemolytic capacity, and ply gene expression of *S. pneumoniae*. These results confirmed that the ions released from the S-PRG filler inhibited the growth and virulence of *S. pneumoniae*.

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

---

---

## 2-PG31 Dectin-1/Syk 経路の活性化がヒト歯根膜線維芽細胞に及ぼす影響

---

○猪俣 恵<sup>1</sup>, 安部 雅世<sup>1</sup>, 天野 滋<sup>2</sup>, 坂上 宏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>明海大 歯 口腔生物再生医工 微生物, <sup>2</sup>明海大 歯科医学総合研

---

口腔内で最も豊富な真菌種である *Candida albicans* の細胞壁には,  $\beta$ -グルカンが含まれている。 $\beta$ -グルカンに結合する Dectin-1 は, 真菌の認識に関与する膜タンパク質である。我々は現在までに, Dectin-1 が歯肉線維芽細胞, 歯根膜線維芽細胞, 口腔扁平上皮癌細胞および歯肉扁平上皮癌細胞に発現していることを報告した。本研究では, 歯根膜線維芽細胞に着目して Dectin-1 を介した活性化が同細胞に及ぼす影響を調べた。 $\beta$ -グルカンに富み Dectin-1 のリガンドとして働くザイモサンは, インターロイキン (IL)-6, IL-1 $\beta$ , IL-17A, およびケモカイン IL-8 を含むサイトカインの発現を誘導した。さらに, ザイモサンは抗菌ペプチドである  $\beta$ -defensin1 の発現を誘導した。ザイモサンの刺激は Dectin-1 を介して Syk の活性化が生じることで下流に伝達される。ザイモサンは歯根膜線維芽細胞において Syk とその下流のシグナル伝達分子である p38, Akt および NF- $\kappa$ B のリン酸化を誘導した。さらに, ザイモサンによるサイトカインの誘導および Syk とその下流分子の活性化は Syk 阻害薬によって抑制された。熱殺菌された *C. albicans* は, IL-6, IL-17A, IL-8, および  $\beta$ -defensin1 の発現を誘導し, この活性化は Syk 阻害薬によって抑制された。これらの結果から, Dectin-1/Syk 経路を介した歯根膜線維芽細胞の活性化が免疫応答を誘導し, 口腔の恒常性の維持に関与すると考えられた。さらに, 歯根膜線維芽細胞の Dectin-1/Syk を介した活性化は, カンジダ症や歯周炎などの口腔感染症の制御に関与すると示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Effect of activation of human periodontal ligament fibroblasts via the Dectin-1/Syk pathway

---

○Inomata M<sup>1</sup>, Abe M<sup>1</sup>, Amano S<sup>2</sup>, Sakagami H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Biol Tissue Eng Div Microbiol Meikai Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Meikai Univ Res Inst Odont

---

The cell wall of the fungus *Candida albicans*, the most abundant fungal species in the oral cavity, contains  $\beta$ -glucan. Dectin-1 is a membrane protein that binds  $\beta$ -glucan and participates in fungal recognition. However, the expression and role of Dectin-1 in oral cavity cells have not been explored. This study aimed to determine the expression and effect of Dectin-1 activation on oral cavity cells, focusing on human periodontal ligament fibroblasts (HPLFs), which help maintain the periodontium. Dectin-1 is constitutively expressed in HPLFs.  $\beta$ -Glucan-rich zymosan induced the expression of cytokines, including interleukin (IL)6, IL1 $\beta$ , and IL17A, and the chemokine IL-8. In addition, zymosan induced the expression of the antimicrobial peptide  $\beta$ -defensin-1 (DEFB1), which was blocked by Syk inhibitor. Further, zymosan induced the phosphorylation of Syk and NF- $\kappa$ B upon Dectin-1 activation. Notably, heat-killed *C. albicans* induced the expression of IL-6, IL-17A, IL-8, and DEFB-1, and this activation was suppressed by Syk inhibitor. These findings indicate that the activation of HPLFs via the Dectin-1/Syk pathway induces an immune response, which may regulate the homeostasis of the oral immunity. Furthermore, the Dectin-1/Syk-mediated activation of HPLFs may facilitate the control of oral infections such as candidiasis and periodontitis.

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

---



---

## 2-PG32 滑走運動細菌によるバイオフィルム拡張

---

○佐藤 啓子<sup>1</sup>, 近藤 好夫<sup>2</sup>, 内藤真理子<sup>3</sup>, 門脇 知子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>長大 院医歯薬 フロンティア口腔, <sup>2</sup>長大 院医歯薬 小児歯, <sup>3</sup>長大 院医歯薬 口腔微生物

---

歯周病患者の歯周細菌叢は、9型分泌装置 (Type IX Secretion System: T9SS) を持つ数種の細菌、特に *Porphyromonas gingivalis* の存在下で病的細菌叢に変化する。T9SS は、バクテロイデーテス門細菌の *Tannerella forsythia*, *Prevotella melaninogenica* 等の歯周病関連細菌にも保存され、病原性発現に関与していると考えられている。これらの菌種の T9SS からは数十種類のタンパク質が分泌されており、*P. gingivalis* では、この分泌装置によって、組織障害性プロテアーゼであるジンジパイン、関節リュウマチに関わるとされるシトルリン化酵素、赤血球凝集因子など、少なくとも 30 弱程のタンパク質分泌に関与している。T9SS は、PorK, PorL, PorM, PorN 複合体をコア構造とする 12 分子から構成され、12 分子のうち 1 つでも欠損した T9SS 変異株は、タンパク質分泌が一度に抑えられる。また、T9SS はバクテロイデーテス門細菌の滑走運動装置としても機能している。T9SS 滑走運動モデル細菌 *Flavobacterium johnsoniae* は滑走運動により、寒天培地上で拡張したコロニーを形成する。拡張コロニー内部では、ベジクルやファイバー様構造物で満たされた細胞間マトリックスの中に菌体が点在し、バイオフィルム形態となっていた。一方、T9SS 変異株では細胞間マトリックスも乏しく、バイオフィルム拡張が見られなかった。滑走運動の有無によりバイオフィルム形態が大きく異なることが示唆された。【共同研究者：佐藤主税 (産総研)】

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Biofilm formation by gliding motility bacteria

---

○Sato K<sup>1</sup>, Kondo Y<sup>2</sup>, Naito M<sup>3</sup>, Kadowaki T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Front Oral Sci, Nagasaki Univ Grad Sch, <sup>2</sup>Dept Pediatr Dent, Nagasaki Univ Grad Sch, <sup>3</sup>Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch

---

Periodontal disease is a mixed infection involving multiple bacteria, and biofilm virulence is increased in the presence of several bacteria with specific protein secretion systems (Type IX Secretion System: T9SS), particularly *Porphyromonas gingivalis*. *P. gingivalis* secretes more than 30 virulence factors. Furthermore, T9SS is widely conserved in Bacteroidetes, including the major periodontal disease-associated bacteria *Tannerella forsythia* and *Prevotella melaninogenica*, and is involved in the development of pathogenicity. This T9SS gliding motility is involved in biofilm expansion, and it is reported that the oral T9SS gliding bacterium may contribute to oral biofilm expansion.

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

---

---

## 2-PG33 滑走細菌の病原性

---

○近藤 好夫<sup>1</sup>, 内藤真理子<sup>3</sup>, 門脇 知子<sup>2</sup>, 佐藤 啓子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>長大 院医歯薬 小児歯, <sup>2</sup>長大 院医歯薬 フロンティア口腔, <sup>3</sup>長大 院医歯薬 口腔微生物

---

多くの細菌は、固体表面上を滑るように移動することができる。この能力は、バクテロイデス門の多くのメンバー、*Myxococcus xanthus*, *Mycoplasma mobile*, 多くのシアノバクテリアで観察されるが、これらの細菌は独自の運動機構を持つ。バクテロイデス門に属する *Flavobacterium johnsoniae* は、その運動機構を解明するために長年研究されてきた。これまで、*F. johnsoniae* のタンパク質には、Gld, Spr, Rem など、滑走運動に関与するものが多数見つかっている。これらのタンパク質のいくつかは、IX型タンパク質分泌システム(T9SS)の構成要素でもある。また *F. johnsoniae* の滑走運動は、通常、寒天培地上で、不規則で羽毛状の縁を持つ薄く平らな広がるコロニーとして観察される。この現象はコロニー・スプレッディング(CS)と呼ばれる。滑走運動能を欠損した *F. johnsoniae* 変異体ではCSが見られないため、この現象には滑走運動が必要である。

今回、私たちは岐阜県の河川で鮎冷水病に罹患した鮎から分離された *Flavobacterium* 属細菌で変異株作成が可能であった1菌株を分離し、*Flavobacterium* sp. GiFuPREF103と名付けた。同菌株のゲノムを解析したところ、これまで *F. johnsoniae* や *Porphyromonas gingivalis* で研究されてきたT9SSをコードする遺伝子だけでなく、上記のすべての滑走運動に関連する遺伝子がよく保存されていた。本研究では滑走運動とタンパク質分泌といった2つの生物学的プロセスと病原性との関連性について調べることを目的として、変異誘発を利用して、CS能を欠損する変異体群を単離した。表現型解析により、これらの変異体には赤血球凝集、バイオフィーム形成能が低下していることを明らかにした。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Pathogenicity of gliding bacteria

---

○Kondo Y<sup>1</sup>, Naito M<sup>3</sup>, Kadowaki T<sup>2</sup>, Sato K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Pediatr Dent, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ, <sup>2</sup>Dept Front Oral Sci, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ, <sup>3</sup>Dept Microbiol Oral Infect, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ

---

Many bacteria can glide over solid surfaces. This ability is observed in many members of the phylum *Bacteroidetes*, and they have unique motility mechanisms. *Flavobacterium johnsoniae*, a member of the phylum *Bacteroidetes*, has been studied to elucidate motility mechanism. So far, many proteins of *F. johnsoniae* have been found to be involved in gliding motility. Some of these proteins are also components of the type IX protein secretion system (T9SS). The gliding motility of *F. johnsoniae* is observed on agar media as flattened spreading colonies. This phenomenon is called colony spreading (CS). Since CS is not observed in mutants deficient in gliding motility, gliding motility is necessary for CS.

In this study, we isolated *Flavobacterium* sp. GiFuPREF103 from a sweetfish that had been infected with cold-water disease. Genome analysis of this strain revealed that not only the gene encoding T9SS, but also all genes related to gliding motility were well conserved. In this study, we used mutagenesis to isolate some mutants defective in CS ability with the aim of investigating the relationship between these two biological processes, i.e., gliding motility and protein secretion, and pathogenicity. Phenotypic analysis revealed that these mutants had reduced hemagglutination and biofilm formation capacity.

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

---

## 2-PM1 味蕾における Mash1 発現前駆細胞の分化

○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 が主に III 型細胞の分化に関与することが明らかとなっているが、その機能の詳細は未だ不明である。本研究では、味細胞の分化過程における Mash1 の機能を解明することを目的として、トランスジェニックマウスを用いて Mash1 発現細胞系譜を探索した。

雌雄の Mash1CreERT2/CAG-floxed tdTomato (MT) マウスを交配後、妊娠後期 (E18) の雌に Tamoxifen を投与し、Mash1 発現細胞に tdTomato を蛍光標識させた。生後 7 日 (P7) の新生仔の有郭乳頭 (CV) から凍結切片 (厚さ 5  $\mu$ m) を作製し、味細胞マーカーを対象とした免疫染色を行った。その結果、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 (PLC $\beta$ 2, gustducin) を発現していた。さらに、MT マウスから味蕾 organoid を作製し、培養液に Hydroxytamoxifen を添加して培養を行った。培養 20 日目に whole-mount および凍結切片を用いた免疫染色を行った結果、organoid 内の Mash1 発現細胞は AADC, Car4, PLC $\beta$ 2, および gustducin を発現し、P7 MT マウスを用いた in vivo の結果と一致していた。次に、雌雄の Mash1CreERT2/CAG-floxed neo-diphtheria toxin A (MD) マウスを交配後、E18 の雌に Tamoxifen を投与し、Mash1 発現細胞に細胞死を誘導させた。P7 新生仔の CV 上皮から抽出した mRNA を用いて cDNA を調製した。TaqMan プローブ法による定量的 RT-PCR を行った結果、Mash1 の発現量の減少に加え AADC, PLC $\beta$ 2 の発現量が減少傾向を示した。さらに、MD マウスから味蕾 organoid を作製し、培養液に Hydroxytamoxifen を添加して培養を行った。培養 20 日目の味蕾 organoid を用いて whole-mount 免疫染色を行った結果、Mash1 発現細胞を欠失した味蕾 organoid では II 型細胞および III 型細胞の数の減少が認められた。

以上の結果から、Mash1 は III 型細胞および一部の 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。

### Differentiation of Mash1-expressing precursor cells in taste buds

○Matsuyama K, Kataoka S, Toyono T, Seta Y

Div Anat, Kyushu Dent Univ

Previously, we demonstrated that Mash1, a transcription factor, is mainly involved in the differentiation of type III taste cells in adult taste buds. However, it remains unclear exactly how Mash1 mediates taste cell differentiation. In this study, we explored the cell lineage of Mash1-expressing cells utilizing transgenic mice.

Using neonatal mice of Mash1<sup>CreERT2</sup>/CAG-floxed neo-tdTomato mouse line, we observed many tdTomato + cells which coexpressed type III cell markers (AADC and Car4) and a few of them coexpressed type II cell markers (PLC $\beta$ 2 and gustducin) in initially developed taste buds. Next, we cultured taste organoids from above transgenic mice. Within organoids tdTomato + cells coexpressed AADC and Car4 and a subset of them coexpressed PLC $\beta$ 2 and gustducin. Quantitative reverse transcription-PCR analysis revealed that the absence of Mash1-expressing cells resulted in the reduction of AADC and PLC $\beta$ 2 in neonatal mice of Mash1<sup>CreERT2</sup>/CAG-floxed neo-diphtheria toxin A mouse line. Furthermore, in cultured taste organoids lacking Mash1-expressing cells derived from above transgenic mice, the number of organoid colonies containing Car4 + and gustducin + cells were smaller than that of control.

These results suggest that taste precursors express Mash1 in the differentiation process of type II in addition to type III taste cells.

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

## 2-PM2 抜歯窩治癒過程における Gli1 陽性歯根膜細胞の骨形成能

○藤井 彩貴<sup>1</sup>, 建部 廣明<sup>2</sup>, 溝口 利英<sup>3</sup>, 志茂 剛<sup>1</sup>, 細矢 明宏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北医療大 歯 組織再建口外, <sup>2</sup>北医療大 歯 組織, <sup>3</sup>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<sup>ERT2</sup>;Rosa26-loxP-stop-loxP-tdTomato (iGli1/Tomato) マウスの上顎第二臼歯を抜歯した。抜歯前および抜歯後1-7日に上顎骨を摘出、固定し、H-E染色およびPCNA, BMP4, Smad4, Runx2, Osterix, Osteopontin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。この新生骨周囲にはBMP4, Smad4, Runx2の陽性細胞が認められ、骨表面にはOsterix陽性の骨芽細胞が配列した。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、BMPシグナルを介して骨芽細胞へと分化することが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

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

○Fujii S<sup>1</sup>, Takebe H<sup>2</sup>, Mizoguchi T<sup>3</sup>, Shimo T<sup>1</sup>, Hosoya A<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Reconstructive Surg Oral Maxillofac Reg, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>2</sup>Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>3</sup>Oral 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<sup>ERT2</sup>;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 BMP4, Smad4, and Osterix on the surface of newly-formed bone. These results suggest that Gli1-positive cells in the periodontal ligament proliferate after tooth extraction and differentiate into osteoblast via BMP signaling during socket healing.

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



---

## 2-PM3 歯冠部象牙質における Advanced Glycation End products (AGEs) 蓄積の比較

---

○浅見 瑠璃, 林田千代美, 佐藤 卓也, 崎山 浩司

明海大 歯 解剖

---

【目的】近年, 老化機構の観点から終末糖化産物 (AGEs) に着目した研究が急速に展開されている。生体内に AGEs が蓄積されると, タンパク質の機能低下が起こり, 組織や細胞に生理的, 物理的障害を及ぼす結果, 老化や全身疾患への関与が明らかになっている。そこで本研究では, エナメル象牙境および歯髄腔に隣接した象牙質間における AGEs 蓄積の比較をした。

【方法】試料は, 本学付属明海大学病院および研究協力施設を受診した 16~69 歳の第三大臼歯である。なお, これらの試料はう蝕がなく, 既往歴が明らかであり, 対象者には予め本研究の趣旨を説明し, 内容について理解した上で, 抜去歯の提供の同意を得た。なお, 本研究は本学倫理委員会の承認を得た (承認番号: A2014)。得られた抜去歯は脱灰, パンチアウト, 加水分解処理の後, Woessner の方法によりサンプル中のヒドロキシプロリン量の測定, および高速液体クロマトグラフィーによる AGEs の検出・定量を行い, AGEs 量/ヒドロキシプロリン量を, 一定量の象牙質中に含まれる AGEs の relative content とした。加えて, 定めた 2 領域間での AGEs を比較した。

【結果と考察】若・老年者ともに, エナメル象牙境付近および歯髄腔付近の象牙質では明らかに AGEs 量に違いが認められた。AGEs は加齢とともに増え, 生体内に蓄積される。中でもコラーゲン線維は AGEs の影響を受けやすく, AGEs によってコラーゲン間に無秩序な架橋構造が形成される結果, 伸展性を低下させ, 脆弱化を引き起こす。象牙質の有機性基質のほとんどはコラーゲンで, 歯髄外周の境界部に位置する象牙芽細胞が, 象牙質の全層を貫く象牙細管中に突起を伸ばし, 生涯にわたり象牙質を形成する。今回の結果より, AGEs 量の差が現れた理由として, 加齢に加え象牙質の形成時期が関与していると考えられた。今後の展望として, AGEs 蓄積に基づく年齢推定への応用を検討している。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Comparison of Advanced Glycation End products (AGEs) accumulation in crown dentin

---

○Asami R, Hayashida C, Sato T, Sakiyama K

Div Anat, Dept Human Dev Foster, Meikai Univ Sch Dent

---

[Objective] Recently, studies focusing on advanced glycation end-products (AGEs) from the viewpoint of the aging mechanism have progressed in the medical field. It was reported that AGEs accumulate in the body, being involved in aging and systemic diseases. Therefore, we compared AGEs accumulation between dentin adjacent to the enamel dentin junction and pulp cavity.

[Materials and Methods] As a subjects in this study, the third molar extracted for treatment used as samples. Subjects with no caries with a clear medical history selected from those of 16-69 years old who visited Meikai University Hospital. The study was approved by the Ethics Committee of Meikai University, School of Dentistry (approval number: A2014). The subjects trimmed, decalcified, followed by amino group-protective treatment and hydrolysis with hydrochloric acid, and AGEs detected and quantitated using high-performance liquid chromatography.

[Results and Conclusion] Significant differences were observed in AGEs ratio in the enamel dentin junction and pulp cavity. It was considerate that AGEs accumulation was related to aging and the dentin formation time.

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

---

---

## 2-PM4 実験的歯牙移動時における Gli1 陽性歯根膜細胞の分化機構の解析

---

○関 有里<sup>1,2</sup>, 建部 廣明<sup>1</sup>, 溝口 利英<sup>3</sup>, 入江 一元<sup>4</sup>, 細矢 明宏<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北医療大 歯 組織, <sup>2</sup>北医療大 歯 矯正, <sup>3</sup>東歯大 口科研, <sup>4</sup>北医療大 歯 解剖

---

【目的】矯正歯科治療による歯の移動により、歯根周囲の歯槽骨で骨リモデリングが生じる。しかし、メカニカルストレスにより誘導される骨芽細胞の分化機構に関しては不明な点が多い。近年、転写因子 Gli1 が歯胚形成時の未分化細胞において発現することが明らかとなり、間葉系幹細胞のマーカー遺伝子として有用であることが示された。そこで本研究では、矯正学的歯の移動時における Gli1 陽性歯根膜細胞の骨芽細胞分化機構を組織学的ならびに免疫組織化学的に検討した。

【試料及び方法】タモキシフェンを2日間投与した8週齢 iGli1/Tomato マウスの上顎切歯と第一臼歯間にクロズドコイルスプリングを装着した。上顎第一臼歯遠心頬側根を観察領域とし、第一臼歯歯根膜における Gli1/Tomato, PCNA,  $\beta$ -カテニン, Smad4, Runx2, Osterix の局在を検討した。【結果及び考察】装置装着前の歯根膜では、ごく少数の Gli1/Tomato 陽性細胞が血管周囲に局在していた。Smad4 および  $\beta$ -カテニンは歯槽骨表面の骨芽細胞ならびにその周囲の細胞で陽性反応が認められた。装着2日後、牽引側である遠心歯根膜では、PCNA 陽性細胞が多数認められ、Gli1/Tomato 陽性細胞の数が増加していた。5日後では、近遠心の歯根膜に多くの Smad4,  $\beta$ -カテニン陽性細胞が認められた。10日後になると、遠心歯槽骨表面に Gli1/Tomato 陽性細胞が認められ、骨芽細胞分化マーカーである Runx2 並びに Osterix の免疫反応を示した。【結論】矯正学的歯の移動時において、Gli1 陽性歯根膜細胞はメカニカルストレスに反応して増殖し、骨芽細胞へ分化することが明らかとなった。また、その分化には BMP ならびに Wnt シグナル伝達経路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。

---

## Analysis of differentiation mechanism of Gli1-positive cells periodontal ligament cells during experimental tooth movement

---

○Seki Y<sup>1,2</sup>, Takebe H<sup>1</sup>, Mizoguchi T<sup>3</sup>, Irie K<sup>4</sup>, Hosoya A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Histol, Health Sci Univ Hokkaido, <sup>2</sup>Dept Orthodont, Health Sci Univ Hokkaido, <sup>3</sup>Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll, <sup>4</sup>Div Anat, Health Sci Univ Hokkaido

---

Although orthodontic tooth movement induces bone formation at the tension side of the alveolar bone, the mechanism of the osteoblast differentiation is not fully understood. Gli1, an essential transcription factor of hedgehog signaling, functions in undifferentiated cells during embryogenesis. Thus, in the present study, we investigated the differentiation of Gli1-positive cells in the periodontal ligament during experimental tooth movement using a lineage tracing analysis. To move the first molar of iGli1/Tomato mice medially, nickel-titanium closed-coil springs were attached between the maxillary first molar and incisors. At 5 days, numerous  $\beta$ -catenin and Smad4 positive cells were detected at the distal side of the periodontal ligament. At 10 days, TRAP-positive osteoclasts appeared at the surface of the medial alveolar bone. Conversely, at the distal side, there were a large number of osteoblasts aligned on the alveolar bone. Numerous Gli1/Tomato-positive cells were observed at the distal side of the periodontal ligament. Some of these cells showed immunoreactivity of Osterix, a marker of osteoblasts and its progenitor cells. These results demonstrated that Gli1-positive cells in the periodontal ligament could differentiate into osteoblasts during orthodontic tooth movement.

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

---

---

## 2-PM5 骨芽細胞分化における TGF- $\beta$ /MAPK シグナル伝達の解析

---

○Wang Ting Hsuan<sup>1</sup>, 渡辺 清子<sup>2</sup>, 浜田 信城<sup>3</sup>, 石井 信之<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神歯大 院歯 歯内療法, <sup>2</sup>神歯大 院歯 教養教育, <sup>3</sup>神歯大 院歯 口腔細菌

---

### Analysis of TGF- $\beta$ /MAPK signaling in osteoblast differentiation

---

○Wang TH<sup>1</sup>, Watanabe K<sup>2</sup>, Hamada N<sup>3</sup>, Tani-Ishii N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Endodont, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Lib Arts Educ, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Oral Microbiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

---

Purpose: The transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) is a multifunctional cytokine that plays important roles in osteoblast differentiation and bone formation. Recent studies have shown that TGF- $\beta$  signaling promotes osteogenic cell proliferation and commitment to the osteoblast lineage via selective MAPKs and Smad2/3 pathways. However, which pathway is predominantly associated with osteoblast mineralization remains to be elucidated. The purpose of this study was to clarify the role of mitogen-activated protein kinase (MAPK) in TGF- $\beta$  pathways in human osteoblast-like cells (MG63). Materials & Methods: MG63 cells were stimulated with TGF- $\beta$  at concentrations of 0.05, 0.5, 5, and 10 ng/mL. A proliferation assay was performed from 24–72 hours. The specific inhibitor of P38 MAPK (SB203580), inhibitors of JNK (SP600125), and inhibitors of MEK (U0126) were used to observe mineralization and mineralization-related gene expression. The effect of TGF- $\beta$ 1 on mineralization was analyzed by quantifying the area stained with alizarin red on days 7 and 10. Real-time polymerase chain reaction was used to assess the effect of TGF- $\beta$ 1 on the mineralization-related gene expressions: alkaline phosphatase, bone sialoprotein, and type I collagen on days 3 and 7. Results & Conclusion: TGF- $\beta$ 1 showed no effect on MG63-cell proliferation. TGF- $\beta$  together with the mineralization medium (consisting of ascorbic acid, dexamethasone, and  $\beta$ -glycerophosphate) increased the alizarin red-stained area on day 7 and 10. Treatment with inhibitor of JNK showed less red-stained area on day 7 and 10. RT-PCR analyses revealed that the expression of Type I collagen, alkaline phosphatase, and bone sialoprotein mRNA were remarkably enhanced in TGF- $\beta$ 1-stimulated MG63 cells with mineralization medium on day 3, and 7. On the contrary, the expression of Type I collagen and alkaline phosphatase genes were significantly inhibited by SP600125, the inhibitor of JNK, and by SB203580, the inhibitor of P38, whereas MEK inhibitor had no effect on alkaline phosphatase gene expression on day 7. These results suggested that the JNK and P38 MAPK pathway is strongly associated with TGF- $\beta$  signaling in human osteoblast mineralization.

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

---

---

## 2-PM6 GPI アンカー型タンパク質 Lypd1 は、前象牙芽細胞特異的に発現し象牙芽細胞分化を制御する

---

○傅 堯<sup>1</sup>, 宮崎佳奈子<sup>1</sup>, 吉崎 恵悟<sup>1</sup>, 千葉 雄太<sup>2</sup>, 川原 純平<sup>1</sup>, 湯田 智美<sup>1</sup>,  
田 甜<sup>1</sup>, 水田 敢士<sup>1</sup>, 福本 敏<sup>2</sup>, 高橋 一郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 矯正, <sup>2</sup>九大 院歯 小児口腔

---

### GPI-anchored protein Lypd1 is specifically expressed on preodontoblast and regulates odontoblast differentiation

---

○Fu Y<sup>1</sup>, Miyazaki K<sup>1</sup>, Yoshizaki K<sup>1</sup>, Chiba Y<sup>2</sup>, Kawahara J<sup>1</sup>, Yuta Y<sup>1</sup>, Tian T<sup>1</sup>, Mizuta K<sup>1</sup>,  
Fukumoto S<sup>2</sup>, Takahashi I<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

---

Purpose Lipid raft is one of the microdomain in the plasma membrane, consisting mainly of GPI-anchored proteins, cholesterol, and receptors. They play important roles in regulating signaling, however there are few reports about their role in cell differentiation. Here, we performed single-cell RNA-seq (scRNA-seq) analysis of mouse embryonic tooth germ and identified a GPI-anchored protein LY6/PLAUR domain containing 1 (Lypd1) from the clusters of pre-odontoblasts. The purpose of this study was to elucidate how Lypd1 modulates odontoblast differentiation. Materials & Methods The expression pattern of Lypd1 was analyzed by qRT-PCR and in situ hybridization (ISH). The lipid raft inhibitor Methyl- & beta-cyclodextrin (M&beta CD) was applied to mice mandibular tooth germs from embryonic day 15 for organ culture. Lypd1 siRNA and Lypd1 expression vectors, including a full-length Lypd1 (Lypd1-FL) and a truncated construct lacking the C-terminal structural domain containing the omega site (Lypd1-ΔGPI), were transfected into mouse dental papilla (mDP) cells to analyze the function of Lypd1 on differentiation. To explore the Lypd1 mediated signaling pathway that induces odontoblast differentiation, we added BMP2 to mDP cells and verified signaling pathway by western blotting. Results & Conclusions scRNA-seq analysis revealed that Lypd1 is specifically expressed in pre-odontoblast clusters. The qRT-PCR and ISH showed that Lypd1 is highly expressed in the brain and teeth. Lypd1 is upregulated during tooth development and is localized in the mesenchymal cells, especially in the preodontoblasts. Depletion experiments of lipid rafts and Lypd1 using ex vivo organ cultures and cell cultures reduced the expression of Lypd1 and odontoblast differentiation marker genes such as Pannexin 3 (Panx3) and Dentin Sialophosphoprotein (Dspp). Furthermore, we identified that Lypd1-FL transfection induced the expression of Panx3 and Dspp in mDP cells, while Lypd1-ΔGPI reduced them. To analyze the function of Lypd1, we added BMP2 to stimulate odontoblast differentiation and evaluated the signaling pathway. BMP2 induced phosphorylation of the downstream signaling molecules Smad1/5/8 and upregulated Lypd1 and Dspp expressions. Phosphorylation of Smad1/5/8 is inhibited by Lypd1 siRNA. These results suggest that Lypd1 induces odontoblast differentiation by regulating the BMP signaling pathway and that the GPI anchor in the lipid rafts is necessary for this function.

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

---



---

## 2-PM7 Gli1 陽性歯髓細胞の象牙質再生過程における機能解析

---

○高濱 暁<sup>1,2</sup>, 関 有里<sup>2,3</sup>, 佐藤 幸平<sup>2</sup>, 建部 廣明<sup>2</sup>, 溝口 利英<sup>4</sup>, 八若 保孝<sup>1</sup>, 細矢 明宏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北大 院歯 小児 障害者歯, <sup>2</sup>北医療大 歯 口腔構造 機能発育 組織, <sup>3</sup>北医療大 歯 口腔構造 機能発育 歯科矯正, <sup>4</sup>東歯大 口腔科学研究セ

---

【目的】歯髓に間葉系幹細胞が存在することが知られているが、その局在ならびに機能は不明な点が多い。一方、転写因子である Gli1 は様々な組織の幹細胞で発現が認められており、創傷後の再生過程においても見い出されることが知られている。そこで本研究では象牙質再生過程における Gli1 陽性細胞の機能を検討する目的で、窩洞形成後の歯髓における Gli1 陽性細胞とその子孫細胞の局在を細胞系譜解析法で観察した。【方法】4 週齢 Gli1-CreERT2/ROSA26-loxP-stop-loxP-tTomato (iGli1/Tomato) マウスにタモキシフェンを 2 日間投与した。投与後 0 日および 28 日に上顎骨を取り出し、上顎第一臼歯歯髓における Gli1/Tomato 陽性細胞の局在を観察した。また、上顎第一臼歯近心面に象牙質窩洞を形成し、3, 14 日後に Gli1/Tomato, Runx2, Osterix, 象牙質シアロタンパク (DSP) の局在を検討した。【結果及び考察】4 週齢 iGli1/Tomato マウスの歯髓において、血管周囲で散在性に Gli1/Tomato 陽性細胞が認められた。この Gli1/Tomato 陽性細胞の数は 28 日後の歯髓においてもほとんど変化はなく、増殖を認めなかった。窩洞形成 3 日後の歯髓では、窩洞直下の細胞に壊死が認められた。Gli1/Tomato 陽性細胞は歯冠上部では消失したが、それ以外の歯髓では Tomato 蛍光が観察された。14 日後になると、既存の象牙質に接して修復象牙質形成が認められた。修復象牙質表面に配列する象牙芽細胞は Runx2 ならびに Osterix 陽性であり、修復象牙質基質は DSP の免疫局在を示した。Gli1/Tomato 陽性細胞は歯髓中に多数認められ、一部は修復象牙質表面に分布していた。【結論】Gli1 陽性歯髓細胞は、非刺激時においてはほとんど増殖しないが、歯髓傷害後に増殖、分化することが明らかになった。また、一部の Gli1 陽性細胞は窩洞形成後に象牙芽細胞へ分化したことから、修復象牙質形成に重要な役割を持つことが示された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Differentiation ability of Gli1 + cells during dentin regeneration

---

○Takahama A<sup>1,2</sup>, Seki Y<sup>2,3</sup>, Sato K<sup>2</sup>, Takebe H<sup>2</sup>, Mizoguchi T<sup>4</sup>, Yawaka Y<sup>1</sup>, Hosoya A<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Child Disabled Person, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, <sup>2</sup>Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>3</sup>Div Orthod Dentofac Orthop, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>4</sup>Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll

---

Although mesenchymal stem cells harbor in the dental pulp, their localization and function are controversial. Gli1 is a transcription factor that is expressed in stem cells of various tissues. Therefore, in the present study, to analyze the function of Gli1 + cells in the dental pulp during dentin regeneration, the differentiation ability of Gli1 + cells was examined using Gli1-CreERT2/ROSA26-loxP-stop-loxP-tTomato (iGli1/Tomato) mice. In 4-week-old iGli1/Tomato mice, few Gli1/Tomato + cells were detected around blood vessels in the dental pulp. Since the number of these Gli1/Tomato + cells did not change for 28 days, Gli1 + cells were not proliferating in the dental pulp. After cavity preparation, odontoblast-like cells forming reparative dentin were immunopositive for Runx2 and Osterix at 1 week. Numerous Gli1/Tomato + cells were found in the dental pulp, and some of these cells were distributed on the surface of the reparative dentin. These results demonstrated that Gli1 + cells proliferate in the dental pulp during dentin regeneration, although they are quiescent under physiological condition. In addition, some Gli1/Tomato + differentiated into odontoblast-like cells after cavity preparation, suggesting that Gli1 + cells play an important role in reparative dentin formation.

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

---

## 2-PM8 髓床底部への意図的穿孔形成がマウス歯の再植後の歯髄静的幹細胞動態に及ぼす影響

○佐野 拓人<sup>1,2</sup>, 大島 邦子<sup>3</sup>, 岡田 康男<sup>2</sup>, 佐藤 拓一<sup>1</sup>, 大島 勇人<sup>4</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院保健 臨床化学, <sup>2</sup>日歯大新潟 病理, <sup>3</sup>新潟大 院医歯 小児歯, <sup>4</sup>新潟大 院医歯 硬組織形態

**【目的】**我々は、再植時に髓床底部へ意図的穿孔形成を施すと、歯髄内に早期の血行回復が生じ、即時再植した対照群に比べて、象牙芽細胞様細胞分化が促進され、有意に修復象牙質形成が上昇する（骨様組織形成は減少する）ことを明らかにした。従って、実験群と対照群間で再植後の歯髄治癒に関わる歯髄静的幹細胞の動態が異なることが推察される。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髄静的幹細胞動態へ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、Ki-67免疫組織化学による細胞増殖活性解析およびTUNEL assayによるアポトーシス解析を行った。また、TetOP-H2B-GFPマウスを用いた胎生期ラベリング法（胎生16～18日または胎生17～19日にドキシサイクリン投与）によりGFPで標識された長期ラベル保持細胞（歯髄静的幹細胞）を免疫組織化学的に検出した。

**【結果と考察】**対照群に比較して、実験群では再植後により早く、より高い細胞増殖活性率のピークが確認された。TUNEL assayでは、実験群のTUNEL陽性細胞率が術後3日目と5日目で対照群よりも低く、アポトーシスが抑制されていることが示された。歯冠部におけるGFP陽性細胞は、術後3日目では対照群と実験群は同程度であったが、術後5日目では、実験群では増加傾向に、対照群では減少傾向にあった。従って、髓床底部への意図的穿孔形成による早期の血行回復が、歯髄静的幹細胞の細胞死を減少させ、歯髄治癒の促進に寄与していることが示唆された。

**【利益相反】**利益相反状態にはありません。

## The effects of intentionally perforating the floor of the pulp chamber on dynamics of pulp quiescent stem cells

○Sano H<sup>1,2</sup>, Nakakura-Ohshima K<sup>3</sup>, Okada Y<sup>2</sup>, Sato T<sup>1</sup>, Ohshima H<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Div Clin Chem, Niigata Univ Grad Sch Health Sci, <sup>2</sup>Dept Pathol, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>3</sup>Div Pediatr Dent, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>4</sup>Div 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 the pulp chamber on dynamics of pulp quiescent stem cells after tooth replantation.

**Methods:** Maxillary first molars of three-week-old mice were extracted and repositioned into the original socket without (control group: CG) or with perforation of the floor of the pulp chamber (experimental group: EG). The samples were collected during three days to eight weeks after the operation. The animals were perfusion-fixed, dehydrated, and embedded into paraffin. Immunohistochemistry for Ki-67 and TUNEL assay were conducted. The prenatal labeling method was performed to label dental pulp quiescent stem cells using TetOP-H2B-GFP mice with doxycycline.

**Results and Conclusions:** The EG had an earlier and greater peak of active cell proliferation than the CG. Furthermore, the apoptosis in the EG was lower than that in the CG on days 3 and 5. In the EG, the number of GFP-positive cells in the coronal pulp tended to be higher than the CG on day 5. These results suggest that early revascularization via the perforation reduced the number of apoptotic cells and maintained pulp stem cells.

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

---

## 2-PM9 セマフォリン系とネトリン系のシグナル経路を介した舌下神経軸索誘導

---

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

<sup>1</sup>日歯大 生命歯 病理, <sup>2</sup>神奈川こども医療セ 臨床研 歯科

---

【目的】舌の発生過程において、舌下神経は後頭神経核から舌領域まで長い距離を正確に伸長していくが、その分子機序はよく分かっていない。本研究では、胎生期マウスの舌原基を対象として、神経軸索誘導に働く候補分子の検索を行った。【材料と方法】胎生9.5日～18.5日齢のICRマウス胎仔頭部から、発生段階の舌原基試料（下顎隆起、外側舌隆起、舌）を採取した。舌下神経の進入予定領域に特異的な発現を示す遺伝子群をDNAマイクロアレイとROKU法を用いて絞り込み、軸索の反発・誘引に関わる候補分子の発現と局在をq-PCRならびに免疫組織化学にて検証した。【結果および考察】舌下神経進入時期（胎生11.5日）の外側舌隆起部に特異的な発現遺伝子群のうち、神経軸索誘導に関わる34遺伝子を抽出、パスウェイ解析の上位候補としてセマフォリン系と、ネトリン系のシグナル経路が注目された。舌発生過程でのmRNA発現の検証では、セマフォリンシグナル経路の*Sema3d*と*Nrp1*および*Plxna2*, *Plxnd1*の発現は胎生11.5日をピークとする類似したパターンを示した。組織解析では、SEMA3Dは外側舌隆起の側方部や下顎隆起部で発現しており、NRP1陽性の舌下神経に反発因子として働き進入路を制限していると考えられた。また、もう一つのシグナル経路として、ネトリンシグナル経路のレセプターDCCの小胞輸送を調節する*Robo1*, *Flrt3*もパスウェイ解析より得られた。このネトリンシグナル経路は神経軸索の誘引に働くことが知られている。同様のmRNA発現解析では、*Robo1*は胎生11.5日で発現のピークを示し、*Flrt3*は舌下神経の軸索伸長が進行する時期から漸減していく発現パターンを示した。以上より、舌下神経の正確な誘導調節にセマフォリンシグナル経路やネトリンシグナル経路が働いていることが想定された。

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。

---

## Axonal guidance of hypoglossal nerve via Netrin and Semaphorin signaling pathways

---

○Hani T<sup>1</sup>, Taya Y<sup>1</sup>, Sasaki Y<sup>2</sup>, Kawamoto S<sup>1</sup>, Kudo T<sup>1</sup>, Sato K<sup>1</sup>, Soeno Y<sup>1</sup>

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

---

**Objectives:** The molecular mechanisms underlying hypoglossal nerve elongation are not well understood. In this study, we investigated molecules that act in axonal guidance of the hypoglossal nerve in developing mouse tongue. **Materials & Methods:** Tongue primordia (mandibular arch, lateral lingual swellings and tongue) of ICR mouse embryos were collected at embryonic day (E) 9.5 through 18.5. Using DNA microarrays and ROKU method, we sorted out genes specifically expressed in the region where the hypoglossal nerves reach to, and verified their expression patterns by q-PCR and immunohistochemistry. **Results & Discussion:** We focused on specific genes relevant to hypoglossal nerve entry into the tongue primordium at E11.5. The genes in Semaphorin signaling pathway (*Sema3d*, *Nrp1*, *Plxna2*, and *Plxnd1*) exhibited a peak expression at E11.5. Similarly, *Robo1* also peaked at E11.5, while *Flrt3*, whose protein product activates Netrin signaling pathway (Dcc and Ntn1) in conjunction with ROBO1, decreased from E10.5. Histological analysis further supported their involvement in hypoglossal nerve elongation, e.g., particular SEMA3D distribution in the primordium might act as a repulsive factor on NRP1-positive hypoglossal nerves. These findings suggested that multiple signaling pathways regulate the precise configuration of the hypoglossal nerve during tongue development.

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

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

---

---

## 2-PM10 脱細胞化唾液腺組織を応用した人工唾液腺の作出

---

○大沼慎太郎, 美島 健二, 安原 理佳, 田中 準一, 行森 茜  
昭大 院歯 口腔病理

---

### [背景]

これまでに, *in vitro* において3次元的な唾液腺細胞の培養法として, スフェロイド培養法やオルガノイド培養法が用いられてきた. しかしながら, 実際の生体内に存在する細胞の足場となるべき間質組織を持たないことなどの理由から, その大きさは1 mmに満たないもので極めて小さなものであった. 一方近年, 脱細胞化技術を応用した scaffold の開発が進められ, 細胞ソースと組み合わせることにより, より大きな臓器の形成が報告されている.

### [目的]

脱細胞化技術を用いて, ラット顎下腺の脱細胞化を図り, *in vitro* において人工唾液腺の scaffold として応用することを目的とした.

### [結果]

摘出したラット顎下腺を経導管的に1% SDSを1時間灌流させることにより顎下腺が脱細胞化され, 色調の変化が認められた. HE染色およびAZAN染色では細胞成分は確認されず, 線維性結合組織のみであった. 免疫組織化学により, 間質線維性結合組織の性状を確認したところ, Collagen I, Collagen IVなどの細胞外マトリックスより構成されていた.

### [結論]

今回ラットの顎下腺組織を脱細胞化することに成功した. この脱細胞化唾液腺組織は極めて正常な唾液腺の間質に類似した構造を保持していることが明らかとなった. 今後我々が開発したiPS細胞由来唾液腺細胞の scaffold として応用することにより, より大きな唾液腺組織が構築できるものと期待される.

### [共同研究者]

生体材料工学研究所 生体機能修復研究部門 物質医工学分野  
岸田晶夫 木村剛

**[利益相反]** 利益相反状態にはありません.

---

## Generation of artificial salivary glands using decellularization method

---

○Ohnuma S, Mishima K, Yasuhara R, Tanaka J, Yukimori A  
Dept Oral Pathol, Showa Univ Grad Sch Dent

---

### [Background]

Spheroid and organoid culture methods have been used to generate three-dimensional salivary glands *in vitro*. However, due to the lack of interstitial connective tissue that should serve as a scaffold for cells *in vivo*, their size is not more than 1 mm. However, recently, scaffolds based on decellularization technology have been developed, and when combined with cell sources, the formation of larger organs has been reported.

### [Objective]

The objective of this study was to decellularize rat submandibular glands using decellularization technology and apply it as a scaffold for artificial salivary glands *in vitro*.

### [Result]

Histologically, only fibrous connective tissue without cell components was found. Immunofluorescent analysis showed that the fibrous connective was composed of the extracellular matrix such as collagen I and IV.

### [Conclusion]

In this study, we succeeded in decellularizing rat submandibular glands. The decellularized salivary glands retained stromal structures similar to normal salivary glands. The decellularized salivary glands are expected to be a promising scaffold for the iPS cell-derived salivary gland cells.

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

---



---

## 2-PM11 ヘパラン硫酸は頭蓋顎顔面形態形成において Wnt シグナリングを制御する

---

○中西祐一郎, 犬伏 俊博, 岡 綾香, 黒坂 寛, 山城 隆  
阪大 院歯 矯正

---

【目的】ヘパラン硫酸の合成・代謝にかかわる遺伝子の変異を原因とする先天異常症候群では、口蓋裂をはじめとした頭蓋顎顔面形態異常を伴っていることが明らかとなっているが、その詳細については明らかになっていない。そこで本研究では、ヘパラン硫酸による頭蓋顎顔面の形態形成の制御機構を明らかにすることを目的とした。【試料および方法】野生型マウス(C57BL/6)ならびにヘパラン硫酸合成酵素(Ext1)の頭蓋顎顔面特異的(Wnt1-Cre)ノックアウトマウス(以下、CKO)胎児を用いた。摘出した胎児は実体顕微鏡下での観察に加え、RNAseq解析によりヘパラン硫酸の欠失により影響を受けるパスウェイの網羅的探索を行った。これらの結果をもとに、組織切片を作製し、組織学的解析を行った。Wntシグナルの活性はレポーターマウスであるR26-WntVisマウスを用いて評価した。【結果および考察】CKOは出生直後に死亡し、正中裂、口蓋裂を伴う形態異常を示した。胎生10.5日(E10.5)においてCKOでは上顎突起と内側・外側鼻突起の伸長や癒合が著しく抑制され、TUNEL陽性細胞数の有意な増加とPHH3陽性細胞数の有意な減少を認めた。Whole-mount in situ hybridizationの結果よりヘパラン硫酸プロテオグリカンであるSyndecan4やGlypican3は上顎突起と内側・外側鼻突起にて高発現していた。RNAseqによる上顎突起と内側・外側鼻突起における遺伝子発現プロファイルのエンリッチメント解析の結果より、CKOでは顔面突起の細胞増殖と細胞死の制御に関わるWntシグナリングの異常が示唆された。そこで、Wntシグナルレポーターマウスを用いてCKOではE10.5の顔面突起におけるWntシグナルの活性が対照群と比較して著しく低下していた。【結論】ヘパラン硫酸欠失による頭蓋顎顔面形態の形態異常は、Wntシグナリングの制御機構の破綻に伴う顔面突起部位における細胞死の増加と細胞増殖の低下により引き起こされてい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。

---

### Heparan sulfate regulates Wnt signaling during the craniofacial morphogenesis

---

○Nakanishi Y, Inubushi T, Oka A, Kurosaka H, Yamashiro T

Osaka Univ Grad Sch Dent Dept Orthodont

---

It has been shown that mutations in the genes, which were involved in biosynthesis of heparan sulfate (HS), demonstrated the craniofacial malformation including cleft palate in humans. In this research, we aimed to clarify the mechanisms underlying the pathogenesis of craniofacial malformation by the deficiency of HS biosynthesis. We used craniofacial specific conditional knockout of Ext1, a HS synthase, by crossing with Wnt1-Cre mice (Ext1-CKO). The Ext1-CKO showed severer hypoplasia of the face with midline defects and cleft palate. The growth of facial processes was substantially impaired in Ext1-CKO at E10.5. A comprehensive search using RNAseq for pathways affected by the deficiency of heparan sulfate revealed the dysregulation of Wnt signaling in facial processes of Ext1-CKO, and this is confirmed with reporter mice. Wnt signaling is one of the most important signaling pathway involved in the pathogenesis of the midfacial cleft in humans and mice by regulating the cell proliferation and the cell death in facial processes. In conclusion, the deficiency of HS synthesis leads dysregulation of Wnt signaling during the growth of the facial processes and cause midfacial defects. Our findings might contribute to improve diagnosis and develop treatment strategies for craniofacial anomalies.

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

---

---

## 2-PM12 TGF- $\beta$ は, Semaphorin signal と協調して上皮間葉転換を制御することで Hertwig 上皮鞘の維持とマラッセ上皮遺残を形成する

---

○東根まりい<sup>1</sup>, 池崎晶二郎<sup>2</sup>, 熊上 深香<sup>2</sup>, 荒井 春乃<sup>3</sup>, 山田 浩之<sup>1</sup>, 大津 圭史<sup>2</sup>,  
原田 英光<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岩医大 歯 口外, <sup>2</sup>岩医大 解剖 発生再生, <sup>3</sup>岩医大 歯 小児障害歯

---

歯冠形成終了後, エナメル器から発生したヘルトビッチ上皮鞘 (HERS ; Hertwig's epithelial root sheath) は, 歯根象牙質の形成を誘導する働きを担っている. 歯根形成中の HERS は増殖と伸長を繰り返しながらも歯冠側では断裂を引き起こし, マラッセの上皮遺残 (ERM ; epithelial cell rests of Malassez) を形成する. これまで ERM の発生論には諸説あり, HERS のアポトーシスによる説や上皮間葉転換 (EMT) 説など議論の分かれるところであるが, 我々は特に TGF- $\beta$  を介した EMT による細胞遊走性の制御が HERS の伸長や ERM の形成に関与していると考えている. 今回我々は, 細胞骨格制御に関わる低分子量 G タンパク質のひとつである RhoA に着目し, TGF- $\beta$  と Semaphorin による Rho を介した細胞動態制御の関係性を探った. 免疫組織化学的解析において, HERS から遊走・離脱した歯冠側の細胞は, CK14 に対して陽性であったが E-cadherin や active RhoA に対しては陰性を示していた. これにより HERS に Partial EMT が生じていることが示された. HERS 細胞株を用いた実験においては, TGF- $\beta$  や Rho キナーゼ阻害剤が HERS 細胞の遊走性を促進した. さらに TGF- $\beta$  は Rho シグナルの抑制と EMT マーカーの発現上昇に働いた. 一方で HERS の上皮性維持に関与する因子として, Semaphorin 4A・4D およびその受容体である Plexin B1・B2 の発現を認めた. さらに, Semaphorin 4A および 4D が Rho シグナルを活性化し, HERS の細胞遊走性を抑制した. 以上の結果から, TGF- $\beta$  と Semaphorin 4A・4D は, EMT の誘導と抑制という相反する作用によって, HERS の上皮性の維持と ERM 発生のバランスを調節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.

---

## TGF- $\beta$ signal regulates tooth root development through controlling EMT of HERS in coordination with Semaphorin signal

---

○Azumane M<sup>1</sup>, Ikezaki S<sup>2</sup>, Kumakami M<sup>2</sup>, Arai H<sup>3</sup>, Yamada H<sup>1</sup>, Otsu K<sup>2</sup>, Harada H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Maxillofac Reg, Iwate Med Univ, Sch Dent, <sup>2</sup>Div Dev Bio and Reg Med, Dept Anat, Iwate Med Univ, <sup>3</sup>Div Pediatr Dent Spec Care Dent, Iwate Med Univ, Sch Dent

---

During root formation, Hertwig's epithelial root sheath (HERS) play a role of inducing root dentin formation. HERS elongates by the proliferation, and occurs fragmentation on the crown side, forming epithelial cell rests of Malassez (ERM), and consequently maintain a constant length. Although there are two theories about the developmental mechanism of ERM, including apoptosis and epithelial-mesenchymal transition (EMT), we have proposed new hypothesis that TGF- $\beta$ -mediated partial-EMT induces cell-migration from HERS. In this study, we explored the role of TGF- $\beta$  and Semaphorin (Sema) in the regulation of Rho signal-mediated cell dynamics. In immunohistochemical analysis, HERS expresses Semaphorin4A/4D and PlexinB1/B2, and the migrating cells from HERS were positive for CK14 but negative for E-cadherin and active RhoA. Experiments using HERS cell lines showed that TGF- $\beta$  suppressed Rho signaling, and that TGF- $\beta$  and ROCK inhibitors promoted the migration by inducing EMT. On the other hand, Sema4A/4D activates RhoA signal in a HERS cell line. These results suggest that TGF- $\beta$  and Sema4A/4D regulate the balance between ERM generation and HERS maintenance through their opposing effects of inducing partial-EMT and maintaining epithelial cell adhesion.

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

---

---

## 2-PM13 歯特異的転写因子 AmeloD 結合タンパク質の酵母 Two-Hybrid 法によるスクリーニング

---

○岡 桜恵<sup>1</sup>, 佐藤 浩<sup>1</sup>, 千葉 雄太<sup>1</sup>, 吉崎 恵悟<sup>3</sup>, 福本 敏<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 小児口腔, <sup>2</sup>東北大 院歯 小児歯, <sup>3</sup>九大 院歯 矯正

---

これまでエナメル質形成に関連する多数の遺伝子が報告されてきたが、エナメル質形成制御におけるこれら分子の作用機序については未だ不明の部分が多い。我々の研究グループでは、エナメル質形成も含めた歯の形態形成制御分子を同定するため、歯に特異的な Basic-helix-loop-helix (bHLH) 転写因子群の同定を試み、歯特異的な新規遺伝子 AmeloD の同定に成功した。AmeloD は歯原性上皮において特徴的な発現パターンを示し、AmeloD 欠損マウスが重度のエナメル質形成不全を呈することから、エナメル芽細胞の分化に必須であることが示唆されている。

本研究では、AmeloD のさらなる機能解析のため、Matchmaker™ Gold 酵母ツーハイブリッドシステム (Takara Bio) を用いて、AmeloD と相互作用するタンパク質のスクリーニングを試みた。AmeloD の cDNA はマウス歯胚より RT-PCR によって増幅した。これを AmeloD タンパク質全長が GAL4 の DNA 結合ドメインとの融合タンパク質として発現するようにクローニングすることでベイトベクターを構築した。一方で、生後 1 日齢マウス臼歯歯胚より RNA を抽出し、逆転写によって cDNA を合成した。GAL4 タンパク質の転写活性化ドメインとの融合タンパク質として発現するベクターに、得られた cDNA をクローニングすることで遺伝子発現ライブラリーを作成した。これら AmeloD とライブラリーベクターを形質転換した酵母において、AmeloD と結合が起るタンパク質のクローンでは 4 種類のレポーター遺伝子の発現が起こる。4 種のレポーター遺伝子発現に起因する酵母の栄養要求性や薬剤耐性、コロニーの色の変化を指標にスクリーニングを行った。その結果、 $3.7 \times 10^6$  のライブラリークローンより 167 のポジティブクローンが得られた。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Screening of proteins binding to tooth specific transcription factor AmeloD by yeast two-hybrid system

---

○Oka S<sup>1</sup>, Sato H<sup>1</sup>, Chiba Y<sup>1</sup>, Yoshizaki K<sup>3</sup>, Fukumoto S<sup>1,2</sup>

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

---

Many genes related to dental enamel formation have been reported, but the regulatory mechanism by these molecules of dental enamel formation remains unclear. In order to identify tooth morphogenetic molecules including dental enamel formation, we attempted to identify tooth-specific Basic-helix-loop-helix (bHLH) transcription factors, and determined the novel gene, AmeloD, expressed specifically in tooth. AmeloD has a distinctive expression pattern in the odontogenic epithelium, and AmeloD-deletion mice developed severe enamel hypoplasia, suggesting a crucial role for ameloblast differentiation.

In this study, to identify an additional function of AmeloD, we were screened the proteins binding to AmeloD by using Matchmaker™ Gold Yeast Two-Hybrid System (Takara Bio). The bait vector was constructed by cloning the full-length of mice AmeloD. A gene expression library was constructed by co-transformation both cDNA from postnatal day 1 mouse molar tooth germ and the linearized prey vector to yeast cells. As a result of screening using the expression of four reporter genes in the yeast transformed with both the bait vector and the expression library, 167 positive clones were obtained from  $3.7 \times 10^6$  library clones.

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

---

---

## 2-PM14 喫煙によるアリルヒドロカーボン受容体を介した口蓋粘膜創傷治癒破綻メカニズムの解明

---

○浜田 勇作, 井澤 俊, 吉川 友理, 上岡 寛

岡大 院医歯薬 歯科矯正

---

【目的】近年, 内分泌攪乱物質を含む喫煙が口唇口蓋裂のリスクファクターであることは疫学的にはよく知られた事実であるが, そのメカニズムは十分に明らかにされていない. タバコの煙には発癌性物質が100種類以上含まれていることが知られているが, その中で最も強力な化学物質の一つがベンツピレン (benzo[a]pyrene; B[a]P) である. 最近, マクロファージにおけるアリルヒドロカーボン受容体 (AhR) シグナルとヘテロ二量体を形成する低酸素応答遺伝子 HIF-1 が口蓋粘膜の創傷治癒に重要な役割を果たしていることを我々は明らかにしてきた. そこで今回, マクロファージにおける B[a]P 等が結合する AhR シグナル伝達経路に着目し, 喫煙などの外的因子による口蓋粘膜創傷治癒に及ぼす影響について検討した. 【試料および方法】in vivo 実験系として B[a]P を経口投与後, 野生型マウス及び AhR 欠損マウス (各 n=8) の口蓋粘膜に創傷を作製後その治癒過程における形態学的観察を行った. in vitro 実験系としてマクロファージを B[a]P で刺激後に遊走能, 細胞内シグナル伝達や各種サイトカイン産生能の解析を実施した. 【結果および考察】タバコ煙中に含まれる B[a]P を野生型マウスへ経口投与した結果, 口蓋粘膜の創傷治癒が遅延していることが明らかとなった. 一方で AhR 欠損マウスへの投与では口蓋粘膜の創傷治癒に変化を認めなかった. さらに, 野生型マウス B[a]P 経口投与群では M1 マクロファージの集積が優位となり, 組織修復 M2 マクロファージの集積は減少していた. 【結論】以上のことから B[a]P/AhR シグナル経路により活性化したマクロファージのプロファイルの制御が口蓋粘膜創傷治癒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.

---

## Mechanistic analysis of dysregulated palatal wound healing via aryl hydrocarbon receptor by smoking

---

○Hamada Y, Izawa T, Yoshikawa Y, Kamioka H

Dept Orthodont, Grad Sch Med, Dent and Pharma Sci, Okayama Univ

---

Smoking is a major risk factor for cleft and lip palate, but the mechanism through which smoke accelerates impaired palatal wound healing remains unclear. Cigarette smoke contains high levels of chemicals and agonists for the AhR include benzo[a]pyrene (B[a]P). B[a]P binds to AhR and liganded AhR translocates to the nucleus, where it forms a heterodimer with hypoxia inducible gene ARNT. We have previously reported that hypoxia inducible gene HIF-1 in the macrophage plays an important role on the palatal wound healing. In this study, we have shown that oral gavage with B[a]P delayed palatal wound healing by the decreased infiltration of tissue repair M2 macrophage. Overall, the regulation of M1/M2 macrophage profile via B[a]P/AhR signaling pathway might be the treatment strategy for controlling the palatal wound healing.

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

---



---

## 2-PM15 ラット大唾液腺介在部導管周囲における線維芽細胞の特異的配列

---

○小野澤 豪<sup>1,2</sup>, 長坂 新<sup>1</sup>, 坂東 康彦<sup>1</sup>, 天野 修<sup>1</sup>

<sup>1</sup>明海大 歯 組織, <sup>2</sup>明海大 歯 口腔顎顔面外科

---

唾液腺における間質の機能を解明する目的で、ほとんど注目されてこなかった線維芽細胞の形態と分布について、免疫組織化学的に詳細に解析し、介在部導管に特異的な密集が見られることを昨年度の本学会で発表した。またラット大唾液腺の介在部導管には常に筋上皮細胞が縦走し、それが同部の同定に非常に有効であり、また筋上皮細胞をもたない腺外分泌部では線維芽細胞の密集は認められないことが分かった。今回は主に筋上皮細胞が介在部導管のみに存在するラット耳下腺を用い、筋上皮細胞を指標として介在部導管における線維芽細胞の配列を免疫組織化学的および三次元立体再構成により詳細に解析した。ウイスター系8週雄ラットを灌流固定し、大唾液腺を摘出し、厚さ20 $\mu$ mの凍結切片を作成し、免疫組織化学的染色を行い、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なった。線維芽細胞は抗47kDa熱ショックタンパク(Hsp47)抗体、筋上皮細胞は抗 $\alpha$ 平滑筋アクチン(aSMA)抗体をマーカーとした。

小葉内のHsp47免疫陽性線維芽細胞は、小葉間の線維芽細胞より顕著に小型であったが、介在部周囲の線維芽細胞は他の小葉内線維芽細胞より長い突起をもっていた。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の密集による鞘状の集団を形成していた。三次元立体再構成による観察では介在部の分岐部付近では、線維芽細胞は輪状に配列して導管を取り巻くように突起を伸ばしていた。しかし分岐が見られない部位では線維芽細胞は導管の長軸に沿って縦走するように配列し突起を伸ばしていた。以上の結果から、ラット大唾液腺の介在部導管周囲には、線維芽細胞の突起による鞘状の構造物(介在部導管周囲鞘)が存在し、唾液流や筋上皮細胞の収縮から保護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。

---

## Characteristic arrangement of fibroblasts along the intercalated duct of rat major salivary glands

---

○Onozawa G<sup>1,2</sup>, Nagasaka A<sup>1</sup>, Bando Y<sup>1</sup>, Amano O<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Histol, Meikai Univ, <sup>2</sup>Div Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ

---

We have reported the specific structures termed *peri-intercalated duct sheath* by dense localization of fibroblasts in rat major salivary glands. This study investigated more detail arrangement of fibroblasts along the intercalated duct (icFB) of rat parotid glands. Fibroblasts were immunostained with anti-47kDa heat shock protein (Hsp47) antibody and the intercalated ducts were marked by the presence of myoepithelial cells stained with alfa-smooth muscle actin (aSMA).

Intralobular fibroblasts immunopositive for Hsp47 were smaller than interlobular ones, but icFB possessed longer processes than other intralobular fibroblasts. Three-dimensional reconstruction revealed that the icFBs at the duct bifurcation run circularly, whereas those at the straight portion run longitudinally. These results suggest that fibroblastic *peri-intercalated duct sheath* protect the duct from the myoepithelial contraction and strong salivary flow.

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

---

---

## 2-PM16 Slc26a2 トランスポーターは上顎臼歯における象牙芽細胞の分化に必要である

---

○吉田 侑加, 犬伏 俊博, 岡 綾香, 山城 隆  
阪大 院歯 矯正

---

【目的】硫酸イオンの細胞内への取り込みに関与する SLC26A2 は骨格形成異常を主徴とする捻曲性骨異形成症の原因遺伝子であり, 硫酸化は発生期における骨格形成に重要である. 捻曲性骨異形成症の患者は, 顔面形成不全や歯の形成異常を伴うことが報告されている. しかし, 硫酸イオン代謝がどのように歯の発生に関与するのかは不明な点が多い. そこで本研究では, 歯の発生における Slc26a2 トランスポーターを介した硫酸イオン代謝の役割について検索することを目的とした. 【方法】CRISPR/CAS9 遺伝子編集法により, Slc26a2 ノックアウトマウス (以下 Slc26a2-KO) を作製し, 胎生 18.5 日にマウス胎児を摘出, マイクロ CT や骨格標本による形態学的解析に加え, 組織学的解析を行った. 歯胚の腎移植実験を行った. ヒト歯髄幹細胞の Slc26a2 ノックダウン株を作製し, 象牙芽細胞分化を検討した. 【結果および考察】Slc26a2-KO の上顎歯胚の歯冠幅径は小さく, 象牙芽細胞は扁平化, 核が細胞内で極性を示さないことが明らかとなった. 一方で, Slc26a2-KO の下顎歯胚は, 上顎歯胚のような顕著な表現型を示さなかった. Slc26a2-KO の上顎臼歯歯胚の象牙芽細胞では, 象牙芽細胞分化マーカーである Dmp1 や Dspp の発現が有意に低下することを示した. また, Slc26a2 をノックダウンしたヒト歯髄幹細胞は, Dmp1 や Dspp の発現が有意に低下した. さらに, 腎被膜下に移植した Slc26a2-KO の上顎臼歯歯胚は, 対照群と比較して象牙質形成量の有意な低下と歯根の短小化を認めた. 【結論】本研究は, Slc26a2 トランスポーターを介した細胞内への硫酸イオンの取り込みが, 上顎歯胚の象牙芽細胞分化, 象牙質形成に重要な役割を果たしていることを示した. 本研究結果は硫酸イオン代謝の象牙質形成への関与についての新たな知見である.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

### Slc26a2 transporter is required for odontoblast differentiation in upper molars

---

○Yoshida Y, Inubushi T, Oka A, Yamashiro T  
Osaka Univ Grad Sch Dent Dept Orthodont

---

The sulfate transporter gene Slc26a2 cause diastrophic dysplasia which represents a skeletal dysplasia in humans. This suggests the importance of sulfate metabolism in the formation of the skeleton. Meanwhile, SLC26A2-related chondrodysplasia is known to show abnormalities in the craniofacial and tooth formation. The aim of this study was to investigate the role of sulfate metabolism via Slc26a2 in tooth development. Slc26a2 knockout mice demonstrated the hypoplasia of the upper jaw, small upper incisors, and molars. In contrast, tooth phenotype is not remarkable in lower incisors and molars. The morphological abnormality was evident in odontoblast rather than ameloblast of upper first molars. The expressions of odontoblast differentiation markers, Dspp and Dmp1, were significantly decreased in upper molars of Slc26a2 deficient mice. The kidney capsule grafting of Slc26a2 deficient tooth germs leads significant reduction of dentin matrix formation as well as tooth root shortening. In this study, we demonstrated that Slc26a2-mediated sulfate metabolism plays a pivotal role in odontoblast differentiation of upper molars. These findings provide new insight into the involvement of sulfate metabolism in odontoblast differentiation. It would be useful to a better understanding the upper molars specific developmental process and the pathogenesis of tooth anomalies in humans.

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

---

## 2-PM17 3次元培養間葉系幹細胞集塊を用いた骨髄脂肪組織様 in vitro モデルの開発

○吉野 舞<sup>1</sup>, 加治屋幹人<sup>1,2</sup>, 吉井 寛毅<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 広島 院医 歯周, <sup>2</sup> 広島 病院歯 口腔先端治療開発

【目的】脂質代謝の中心を担う白色脂肪組織や熱産生を行う褐色、ベージュ脂肪組織とは異なり、骨髄脂肪組織 Marrow adipose tissue (MAT) は、造血、骨代謝、免疫制御との関係が示され、骨粗鬆症等骨髄関連疾患の病態解明と創薬開発研究の注目を集めている。また、近年スフェロイドを用いた白色脂肪組織の3次元培養の報告がある一方、研究ツールとして有用な MAT in vitro モデルの報告はいまだない。MAT は、脂質の沈着した脂肪細胞のみならず、豊富な細胞外基質 (ECM) と、脂質沈着はないが Adipoq を産生する間葉系幹細胞 (MSCs) 由来 Marrow adipogenic lineage precursors (MALP) から構築される。そこで本研究では、MSCs と細胞自身が産生する ECM からなる3次元間葉系幹細胞集塊 Clumps of MSCs/ECM complexes (C-MSCs) を応用し、MAT 様 in vitro モデルの樹立を目指した。【方法】ヒト骨髄 MSCs からスフェロイド及び3次元 C-MSCs を作製後、脂肪分化培地で培養した。脂肪関連マーカー発現を qPCR で定量した。得られた細胞集塊について、HE 染色・脂肪滴染色・Adipoq 免疫染色を行い、MAT としての組織学的相同性を観察した。【結果】スフェロイド、C-MSCs に脂肪誘導を施すことで、経時的な脂肪関連マーカーの上昇が確認された。また脂肪誘導後、スフェロイドには細胞塊全体的に、C-MSCs の細胞塊外周には Adipoq (+)/脂肪滴 (+) の脂肪細胞が多く認められた。一方、C-MSCs 内部にはスフェロイドでは見られなかった豊富な ECM と Adipoq (+)/脂肪滴 (-) を示す網状の MALP 様細胞が観察された。

【考察】脂肪分化培地で培養した3次元 C-MSCs は、スフェロイドよりもより再現性の高い MAT 様細胞塊が誘導された。今後 MAT としての細胞性質を解明することで、骨髄研究に資する MAT 様 in vitro モデルの確立につながるといえる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## The development of a human bone marrow adipose tissue-like cellular construct using clumps of MSCs/ECM complexes

○Yoshino M<sup>1</sup>, Kajiya M<sup>1,2</sup>, Yoshii H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Periodontal Med, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci, <sup>2</sup>Dept Innovation & Precision Dent, Hiroshima Univ Hosp Dent

Aim: In sharp to White/Beige adipose, bone marrow adipose tissue (MAT), located in the skeleton, contributes to not only lipid metabolism but also hematopoiesis and bone remodeling. Besides, in MAT, marrow adipogenic lineage precursors (MALP), expressing Adipoq and containing no lipid droplets, play crucial roles as descendants of marrow mesenchymal stem cells (MSCs). However, there are few practical human MAT in vitro experimental models. Accordingly, we aimed to develop a human MAT-like construct from 3D clumps of MSCs/extracellular matrix (ECM) complexes (C-MSCs), composed of cells and self-produced ECM.

Methods: C-MSCs generated from bone marrow-derived MSCs were maintained in an adipogenic induction medium (AIM). Adipogenic marker gene expressions were quantified by qPCR. Then, to observe the MAT-like structure in the cellular constructs, HE staining, lipid droplets staining, and immunostaining for Adipoq were performed.

Results: Adipogenic marker genes were increased in C-MSCs cultured with AIM in a time-dependent manner. Besides, there were a large number of Adipoq (+)/lipid droplets (+) adipocytes in the obtained cellular constructs. More importantly, Adipoq (+)/lipid droplets (-) reticulated MALP-like cells forming 3D network inside the cell clumps were also observed.

Discussion: A Human MAT-like cellular construct can be established by using C-MSCs and adipogenic induction.

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

## 2-PM18 低酸素環境が成熟エナメル芽細胞に及ぼす影響

○荒井 春乃<sup>1</sup>, 稲葉 陽<sup>1</sup>, 池崎晶二郎<sup>2</sup>, 熊上 深香<sup>2</sup>, 東根まりい<sup>3</sup>, 森川 和政<sup>1</sup>,  
原田 英光<sup>2</sup>, 大津 圭史<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岩医大 歯 口腔保健 小児・障害歯, <sup>2</sup>岩医大 解剖 発生再生, <sup>3</sup>岩医大 歯 口外

**【背景と目的】** エナメル質の石灰化を担う成熟期エナメル芽細胞は時空間的に厳密に制御されている一方, その異常はエナメル質低石灰化をもたらす. 近年, 出生前後の低酸素環境と低石灰型エナメル質形成不全を関係づける報告があるが, その詳細は明らかでない. 本研究では低酸素環境が成熟期エナメル芽細胞に与える影響を明らかにすることを目的とした. **【材料と方法】** 1. ラット切歯から樹立したエナメル芽細胞株(HAT7)における成熟期エナメル芽細胞マーカーの発現をPCRにて解析した. 2. HAT7を用いたCa<sup>2+</sup>輸送解析モデルを構築し, 低酸素環境におけるCa<sup>2+</sup>輸送能を評価した. 3. HAT7を低酸素環境で培養し, qPCRにてCa<sup>2+</sup>輸送関連分子と解糖系マーカーの発現を, Alizarin Red染色にて石灰化能を, ミトコンドリア膜電位検出キットにてミトコンドリアの機能を評価した. 4. HAT7にミトコンドリアの阻害剤を加え, 石灰化能を評価した. **【結果】** 1. HAT7は成熟期エナメル芽細胞のマーカーを発現していた. 2. 低酸素はHAT7のCa<sup>2+</sup>輸送能を低下させた. 3. 低酸素は種々の成熟期エナメル芽細胞マーカーとCa<sup>2+</sup>輸送関連分子の発現を低下させる一方, 解糖系マーカーの発現を上昇させた. また, 低酸素はHAT7の石灰化能, ミトコンドリアの膜電位を低下させた. 4. ミトコンドリア阻害剤の添加によって, HAT7の石灰化能が低下した. **【結論と考察】** 以上の結果から低酸素環境は, Ca<sup>2+</sup>輸送に関わる遺伝子発現を低下させるとともに, エネルギー代謝をより解糖系優位の状態にシフトすることで, ATP産生を低下させ成熟期エナメル芽細胞の石灰化機能を抑制することが示唆された. 今後は代謝シフト, ミトコンドリア機能と遺伝子発現, 石灰化機能との関係の詳細を明らかにしていく予定である. **【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

## The impact of hypoxia on maturation stage ameloblasts

○Arai H<sup>1</sup>, Inaba A<sup>1</sup>, Ikezaki S<sup>2</sup>, Kumakami M<sup>2</sup>, Azumane M<sup>3</sup>, Morikawa K<sup>1</sup>, Harada H<sup>2</sup>,  
Otsu K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Pediatr Dent Spec Care Dent, Iwate Med Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Dev Bio Reg Med, Dept Anat, Iwate Med Univ, <sup>3</sup>Div Oral Maxillofac Surg, Iwate Med Univ Sch Dent

**[Purpose]** Maturation stage ameloblasts (M-Amel) responsible for enamel mineralization are tightly regulated, while their abnormalities lead to enamel hypomineralization. Recently, the perinatal hypoxia is suggested to relate to enamel hypomineralization. However, the details have not yet been clarified. The aim of this study is to clarify the impact of hypoxia on gene expression and calcification of M-Amel. **[Materials and methods]** 1) The Ca<sup>2+</sup> transport ability under hypoxia (5% O<sub>2</sub>) was evaluated using HAT7 cells established from rat incisors. 2) The expression of Ca<sup>2+</sup> transport-related molecules and glycolytic markers in HAT7 under hypoxia was evaluated by qPCR. The calcification was evaluated by Alizarin Red staining. The mitochondrial function was evaluated by the measurement of mitochondrial membrane potential. 3) The effect of mitochondrial inhibitors on the calcification ability of HAT7 was evaluated. **[Results]** Hypoxia reduced the Ca<sup>2+</sup> transport capacity and the gene expression of Ca<sup>2+</sup> transport-related molecules, while increased the expression of glycolytic markers. Hypoxia also reduced the calcification ability and the mitochondrial membrane potential. Further, mitochondrial inhibitors reduced the calcification ability. **[Conclusion]** These results suggested that a hypoxia suppressed the calcification ability of M-Amel by reducing the expression Ca<sup>2+</sup> transport genes and switching energy metabolism toward glycolysis state.

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



---

## 2-PM19 副交感神経から分泌されるアセチルコリン (ACh) が、唾液腺の発生過程で筋上皮細胞の分化誘導と機能的器官内配置を決定している

---

○真藤 裕基<sup>1</sup>, 若森 実<sup>2</sup>, 中井 淳一<sup>3</sup>, 中村 卓史<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東北大 病院, <sup>2</sup>東北大 院歯 歯科薬理, <sup>3</sup>東北大 院歯 口腔生理

---

マウス顎下腺発生において副交感神経は上皮の枝分かれ機構を制御している。本研究は、顎下腺器官発生において、唾液分泌を制御する副交感神経とその効果器である筋上皮細胞が隣接して器官内配置されることにより、完成後シームレスに神経刺激に応答しうる機能的器官形態形成機序を解明することを目的としている。生後の唾液分泌には ACh M3 受容体が重要であるが、唾液腺発生過程では M1 受容体が強く発現していた。M1 受容体の役割解明のため唾液腺上皮細胞の運命決定が開始する胎生 13.5 日齢のマウス顎下腺を器官培養し、ACh アナログであるカルバコール (CCh) を用い遺伝子発現変化を検討した。その結果 CCh 添加群で上皮間葉転換関連遺伝子および筋上皮細胞のマーカー遺伝子である *ACTA2* 発現が増強した。CCh による *ACTA2* 発現誘導は、M1 受容体アンタゴニストのピレンゼピンにより相殺された。発生唾液腺内の筋上皮細胞の配置変化を蛍光免疫組織染色法にて解析すると CCh 添加群では、筋上皮細胞のマーカーである  $\alpha$ -SMA 陽性細胞が増加していた。また副交感神経マーカー *Tubb3* を用いた解析で、コントロール群では副交感神経と筋上皮細胞との近接局在が観察されたが、CCh 添加群では副交感神経とは独立した筋上皮細胞が多く存在した。副交感神経から分泌される ACh は M1 受容体を介して、唾液腺上皮細胞から筋上皮細胞への運命決定に関わっていた。この機構により、副交感神経から分泌される ACh の受容体サブタイプを M1 から M3 に切り替えることにより、発生器官が即座に機能しうるための支配神経-効果器の機能的器官形態構造を可能にしていることが示唆された。本研究は筋上皮細胞の機能異常による口腔乾燥症の新たな治療法の開発の基盤研究となり得ると考えられる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Acetylcholine (ACh), a parasympathetic neurotransmitter, orchestrates the induction and the positioning of myoepithelial cells in developing salivary glands

---

○Shindo Y<sup>1</sup>, Wakamori M<sup>2</sup>, Nakai J<sup>3</sup>, Nakamura T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tohoku Univ Hosp, <sup>2</sup>Div Mol Pharmacol Cell Biophys, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Div Oral Physiol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

Analysis of embryonic tissues development leads to understand clues in mechanisms required for tissue reassembly and regeneration. The parasympathetic nerve of submandibular gland (SMG) plays a central role of the SMG branching morphogenesis during development. We focused on the function of a parasympathetic neurotransmitter during SMG development. In this study, we used mouse embryonic SMG organ culture system in combination with Carbachol (CCh), an acetylcholine agonist. We found that *Chrm1*, which encodes muscarinic M1 receptor, was preferentially expressed in developing SMG, whereas *Chrm3*, which encodes muscarinic M3 receptor, was predominantly expressed in SMGs of postnatal mice. CCh promoted the gene expressions regulating the epithelial mesenchymal transition including *ACTA2*, which encodes  $\alpha$ -SMA and is a marker of myoepithelial cells. CCh-mediated *ACTA2* gene expression was canceled by pirenzepine, a M1 receptor antagonist. Immunohistochemical analysis revealed that  $\alpha$ -SMA-positive myoepithelial cells were detected near *Tubb3*-positive parasympathetic nerve in control, however, the number of  $\alpha$ -SMA-positive myoepithelial cells was increased in CCh-treated SMGs. Thus, a parasympathetic neurotransmitter ACh is involved in the fate determination of myoepithelial cells development from epithelial cells in SMG via M1 receptor. Our findings provide novel insights into SMG development and tissue regeneration that may facilitate novel treatment of xerostomia.

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

---

---

## 2-PM20 *Porphyromonas gingivalis* の *mfa1* 下流因子の遺伝子型解析

---

○榮 宏太郎<sup>1</sup>, 永野 恵司<sup>2</sup>, 藤本実結菜<sup>3</sup>, 長谷川義明<sup>1</sup>

<sup>1</sup>愛院大 歯 微生物, <sup>2</sup>北医療大 歯 微生物, <sup>3</sup>愛院大 歯 小児歯

【目的】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。本菌のもつ付着因子である Mfa1 線毛は、主要タンパク質である Mfa1 に加え、4つの微量成分 (Mfa2-Mfa5) により構成される。近年我々は、*mfa1* について *mfa1*<sup>53</sup>, *mfa1*<sup>70A</sup>, および *mfa1*<sup>70B</sup> 型の3つの遺伝子型が存在することを報告した。しかし、微量成分の遺伝子型や *mfa1* 型との関連は不明である。本研究では *mfa1* の下流に位置する *mfa2-5* および *ragA/B* の遺伝子多型について解析することを目的とした。【対象と方法】ドラフトゲノムを構築した *P. gingivalis* 12株 (222, 1436, 1439, B42, B158, D83T3, EM3, JKG9, JKG10, Kyudai-3, Kyudai-4 及び TV14 株) と、ゲノムが公開されている62株 (計74株) の *mfa1-5* および *ragA/ragB* 配列を用いた。Clustal $\Omega$  を用いた多重配列アライメント解析を行い、TreeView X を用いて系統樹を構築した。系統樹の距離とクラスター形成に基づき遺伝子型を分類した。さらに、*mfa1* 型、*mfa2-5*、*ragA/B* 型との相関を解析した。【結果と考察】*mfa2-4* は70と53型の2つ遺伝子型に分けられた。一方、*mfa5* は、*mfa2-4* 型とは独立し、A~Eの5つの遺伝子型に分類された。また、D83T3株とEM3株では *mfa5* がタンデムに存在することが分かった。*mfa1* 型は *ragA/B* 型と相関を示す傾向が認められたが、*mfa5* 型との間に相関は認められなかった。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、下流因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。

---

### Genotypic analysis of the downstream genes of *mfa1* in *Porphyromonas gingivalis*

---

○Sakae K<sup>1</sup>, Nagano K<sup>2</sup>, Fujimoto M<sup>3</sup>, Hasegawa Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Microbiol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Microbiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>3</sup>Div Pediatr Dent, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent

[Purpose] *Porphyromonas gingivalis*, a gram-negative anaerobic bacterium, is associated with the development of periodontal disease. Mfa1 fimbriae is composed of the major protein, Mfa1, and four minor components (Mfa2-5) that are expressed downstream of *mfa1*. There are three genotypes of *mfa1*: *mfa1*<sup>53</sup>, *mfa1*<sup>70A</sup>, and *mfa1*<sup>70B</sup>. In this study, we analyze the diversity of *mfa2-5* and *ragA/B*; in addition, we investigated the correlation between *mfa1* and the genotypes of downstream genes. [Subjects and methods] We used genomic information from 74 strains, including 12 strains for which we analyzed draft genomes (222, 1436, 1439, B42, B158, D83T3, EM3, JKG9, JKG10, Kyudai-3, Kyudai-4, and TV14). Bioinformatic analysis was performed using Clustal $\Omega$  and TreeView X. We analyzed the correlation between the genetic diversity in *mfa1* with that of *mfa2-5* and *ragA/B*. [Results and discussion] The *mfa2-4* clustered into two genotypes, 70 and 53. The *mfa5* gene was classified into five genotypes (A-E), independent of the other genotypes. D83T3 and EM3 had two *mfa5* genes in tandem. The *mfa1* genotypes partially correlated with the *ragA/B* genotypes, but not with the *mfa5* genotypes. Future studies should focus on the association between not only the *mfa1* genotypes, but also on the association among the downstream genes.

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

---

## 2-PM21 ファージ由来遺伝子領域の脱落した *Treponema denticola* ATCC35405 変異株の解析

○横川 正治<sup>1</sup>, 藤田 真理<sup>2</sup>, 宮川 博史<sup>2</sup>, 永野 恵司<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北医療大 歯 矯正, <sup>2</sup>北医療大 歯 微生物

【目的】口腔スピロヘータ細菌である *Treponema denticola* は、歯周病の発症や進行に強く関連する。本菌の ATCC 35405 株（標準株）は、基礎研究で広くに使用されており、全ゲノム配列が公表されている。本研究では、本株由来の自然突然変異株を分離し、遺伝学的、生理学および病原性解析を行ったので報告する。【方法】*T. denticola* の培養は、5%ウサギ血清と 10 mg/ml チアミンピロリン酸を添加した変法 GAM 培地を用い、必要に応じて、高純度寒天を添加した。変異株の全ゲノムを次世代シーケンス解析し、親株（ATCC 35405）にマッピングした。運動性は、0.5%寒天含有培地で培養した場合の拡散径と、液体培養液を位相差顕微鏡で観察し、回転速度で評価した場合の2通りで行った。歯肉上皮細胞（Ca9-22）への付着試験は、嫌気性条件下で行い、免疫染色後、付着菌数を計数した。菌体の長さは電子顕微鏡観察像から測定した。キモトリプシン様プロテアーゼ活性は、特異的基質（SAAPFNA）を用いて検討した。転写活性は、全 RNA を抽出後、mRNA シーケンス解析にて行った。【結果】ゲノム解析により、変異株では、3つの遺伝子領域が欠落していることが明らかになった。そのうち、40 kb に及ぶ欠落領域には、9つのファージ関連因子とアノテーションされる遺伝子が検出され、ファージの脱落により消失したと考えられた。増殖性は、液体培地で培養すると、変異株は、親株よりも高密度まで増殖した。一方、変異株の運動性および歯肉上皮細胞への接着性は低下した。菌体長およびキモトリプシン様プロテアーゼ活性は、菌株間に有意な差は認められなかった。RNA シーケンス解析では、菌株間の表現型の違いを説明する遺伝子を特定できなかった。【結論】本研究で得られたファージ脱落変異株は、*T. denticola* の生理学および病原性の特徴に顕著な変化が認められた。遺伝的背景については、さらに検討する必要がある。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

### Characterization of a mutant lacking a phage-derived gene region from *Treponema denticola* ATCC 35405

○Yokogawa T<sup>1</sup>, Fujita M<sup>2</sup>, Miyakawa H<sup>2</sup>, Nagano K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent Div Orthod Dentofac Orthop, <sup>2</sup>Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent Div Microbiol

*Treponema denticola*, a spirochetal bacterium, is responsible for periodontal disease. The type strain of the bacterium, ATCC 35405, is commonly used in a basic research. Here, we report that our stock strain derived from ATCC 35405 had a mutation on the chromosome and expressed differential characteristics from the original strain. Genome sequencing analysis detected three deletions in the mutant strain: a 40-kbp possible phage-derived portion and two short gene regions. The mutant grew to a higher density in broth culture as compared with the origin. In addition, the mutant formed a colony on the surface of the agar medium, whereas the origin could not. On contrary, the mutant showed decreased motility and adhesion to gingival epithelial cells. There were no differences in the bacterial cell length and a chymotrypsin-like protease activity between the two strains. RNA sequencing analysis did not identify the genes that introduced the phenotypic differences between the strains. This mutant is potentially useful for examining the genetic background responsible for the physiological and pathogenic characteristics of *T. denticola*.

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

## 2-PM22 HOMA (ヒト口腔細菌定着) マウスモデルを用いた口腔常在菌による肺炎増悪誘導の解析

○林 真奈美<sup>1,2</sup>, 桑田 啓貴<sup>1</sup>

<sup>1</sup>昭大 歯 口腔微生物, <sup>2</sup>昭大 歯 麻酔

宿主免疫能の低下時に口腔内で細菌が増殖し、嚥下機能の低下などを原因として細菌が呼吸器へ流入することで誤嚥性肺炎が発症する。肺炎起因菌として、肺炎レンサ球菌やインフルエンザ菌などの病原性細菌の関与はすでに明確であるが、一方で、非病原性細菌の関与については明確でない。そこで、口腔内に生育する非病原性細菌による肺炎誘導の仕組みを調べるため、germ-freeマウスにヒト口腔細菌を植え付け作製した Human oral microbiota associated (HOMA)マウスを用いて、口腔常在細菌による誤嚥性肺炎発症との関わりを調べた。健常者2名の口腔細菌ミックスを用いてHOMAマウスを作製し、LPSを腹腔投与することで敗血症を誘発し、2日後に肺組織に含まれる細菌をBHI寒天培地で培養したところ、通常のマウスでは細菌は検出されない一方で、敗血症マウスの肺組織では細菌感染が確認された。同じサンプルを次世代シーケンサーにより、肺組織中の細菌ゲノムの網羅的解析を行ったところ、それぞれの個体の肺臓器に含まれる細菌種には、統一性はなく、個体ごとに大きく異なっていた。免疫学的解析のため、肺切片を組織学的に調べたところ、敗血症誘導の1日後に好中球を中心とした自然免疫系細胞の浸潤が見られ、肺炎が誘導されていた。フローサイトメトリーにより肺の免疫細胞の変化を調べたところ、2日目でCD11b<sup>mid</sup>Siglec-F<sup>high</sup>の肺胞マクロファージが消失し、CD11b<sup>high</sup>Siglec-F<sup>mid</sup>組織マクロファージが増加しており、肺感染症の増悪の仕組みと関連すると考えられた。以上より、健常者の口腔由来の細菌によっても肺炎が起こりうるということがわかった。また、肺炎発症時に、自然免疫系の機能的な変化が、症状の増悪と関連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。

### Mechanism of exacerbation of pneumonia by oral commensals in HOMA (human oral microbiota-associated) mouse model

○Hayashi M<sup>1,2</sup>, Kuwata H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Microbiol Immunol, Sch Dent, Showa Univ, <sup>2</sup>Div Anesthesiol Sch Dent, Showa Univ

Aspiration pneumonia occurs when bacteria increase in the oral cavity and enter the respiratory tract due to impaired swallowing function in the immunocompromised host. Although the involvement of pathogenic bacteria such as *S. pneumoniae* as causative agents of pneumonia has already been clarified, the involvement of non-pathogenic bacteria is not clear. To investigate the mechanism of pneumonia induction by oral non-pathogenic bacteria, we used human oral microbiota associated (HOMA) mice and investigated the relationship between oral commensals and the pathogenesis of aspiration pneumonia. HOMA mice were generated using oral bacterial of two healthy individuals in germ-free mice and LPS was administered intraperitoneally. Bacteria in the lung was cultured on BHI agar and infection was confirmed in the lung of septic HOMA mice, while no bacteria were detected in the normal HOMA mice. Comprehensive analysis of the bacterial genome in the lung using a next-generation sequencer showed that the composition of bacterial species was not uniform. Lung immune profiles were examined by flow cytometry, and we found alveolar macrophages (CD11b<sup>mid</sup>SiglecF<sup>high</sup>) disappeared and tissue macrophages (CD11b<sup>high</sup>Siglec-F<sup>mid</sup>) increased, which was thought to be associated with exacerbation of lung infection. These indicate that pneumonia can be caused by oral commensals in immunocompromised conditions.

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



## 2-PM23 *Porphyromonas gingivalis* を標的とした近赤外線抗微生物ターゲット療法の開発

○丸山 裕<sup>1</sup>, 酒井 陽<sup>2</sup>, 小間 義朗<sup>1</sup>, 董 嬌<sup>1,3</sup>, 劉 柯宏<sup>1</sup>, 渡邊 純奈<sup>1</sup>,  
坂口 晃平<sup>2</sup>, 日比 英晴<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>名大院医 頭頸部・感覚器外科 顎顔面外科, <sup>2</sup>名大 医病院 歯科口外, <sup>3</sup>ルンド大

【緒言】 口腔内細菌である *Porphyromonas gingivalis* は歯周病原菌の一つであり多臓器への影響も示唆されている中、細菌の除去が課題となっている。そこで近赤外線抗微生物ターゲット療法 (Near-Infrared Photo-Antimicrobial Targeting Therapy : NIR-PAT<sup>2</sup>) は近赤外線応答プローブ (IRDye700Dx : IR700) が付与された抗体、近赤外線による反応を用いた新たな殺菌療法である。NIR-PAT<sup>2</sup>は、近赤外線暴露により疎水化した IR700 の急激な疎水体凝集反応で、細菌構造から抗原を分離させ物理的な損傷を与える。抗体を用いた一連の反応により選択的な殺菌が期待できる。本研究では歯周病において重要とされる *Porphyromonas gingivalis* を標的とした NIR-PAT<sup>2</sup>の有効性について検討した。【方法】 *P. gingivalis* (ATCC33277) に対する鶏卵抗体 (IgY) に IR700 を結合させ、複合体 (IgY-IR700) を作成した。作成した IgY がヒト口腔由来細胞に付着しないことを確認した。In vitro では、NIR-PAT<sup>2</sup>後、コロニーカウント、PI 染色後の蛍光顕微鏡とフローサイトメーターにより殺菌効果の検討を行った。In vivo ではマウスの上顎第 2 大臼歯の絹糸結紮と *P. gingivalis* の感染により歯周病モデルを作成し、非治療群 (歯周病モデル)、NIR 照射群、IgY-IR700 投与群、NIR-PAT<sup>2</sup> 群、Sham 群 (絹糸結紮のみ) を設定し、放射線学的に歯槽骨吸収量を評価した。【結果と考察】 In vitro では、NIR-PAT<sup>2</sup>後の *P. gingivalis* は PI 染色陽性率が有意に高く、殺菌が確認された。コロニーカウントでは NIR-PAT<sup>2</sup>サンプルは対照と比較し、有意に低かった。In vivo では NIR-PAT<sup>2</sup>群では micro-CT において有意に歯槽骨吸収量抑制されていた。以上より、NIR-PAT<sup>2</sup>は *P. gingivalis* に対し殺菌効果を示し、新たな殺菌療法として有用となる可能性がある。今後は、NIR-PAT<sup>2</sup>の詳細なメカニズムを解明し、他の菌株においてもそ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。

## Development of near-infrared photo-antimicrobial targeting therapy for *Porphyromonas gingivalis*

○Maruyama H<sup>1</sup>, Sakai K<sup>2</sup>, Koma Y<sup>1</sup>, Dong J<sup>1,3</sup>, Liu K<sup>1</sup>, Watanabe J<sup>1</sup>, Sakaguchi K<sup>2</sup>, Hibi H<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Nagoya Univ Grad Sch Med, <sup>2</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Nagoya Univ Hosp, <sup>3</sup>Lung Bioengin Regene, Dept Experimental Med Sci, Fac Med, Lund Univ

Near-Infrared Photo-Antimicrobial Targeting Therapy (NIR-PAT<sup>2</sup>) is a novel bactericidal therapy based on the reaction between near-infrared light and antibodies with near-infrared response probe IR700. Exposure of the antigen-antibody complex to near-infrared light causes IR700 to become hydrophobic, leading to a rapid hydrophobic aggregation reaction. This reaction causes the antigen to separate from the bacterial structure, causing physical damage and bactericidal effect. In this study, we investigated the bactericidal effect of NIR-PAT<sup>2</sup> on *P. gingivalis*. In vitro, after NIR-PAT<sup>2</sup>, *P. gingivalis* showed significantly increased PI staining positivity compared to controls. Colony counts were significantly decreased in NIR-PAT<sup>2</sup> samples. In vivo, alveolar bone resorption was evaluated by micro-CT in mice model of periodontitis after ligation of maxillary second molars with silk threads and infection with *P. gingivalis*. NIR-PAT<sup>2</sup> group showed significantly reduced bone resorption. NIR-PAT<sup>2</sup> showed bactericidal activity against *P. gingivalis*, suggesting that NIR-PAT<sup>2</sup> may be useful as a novel bactericidal therapy. We plan to clarify the detailed bactericidal mechanism of NIR-PAT<sup>2</sup> and investigate its efficacy against other bacteria in the future.

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

---

## 2-PM24 タバコ抽出液は歯肉上皮細胞のバリア機能を低下させる

---

○山賀 俊介, 竹内 洋輝, 天野 敦雄

阪大 歯 予防

【背景】喫煙は歯周病の発症および進行を誘発する主要なリスク因子である。しかし、喫煙の歯肉上皮細胞のバリア機能に与える影響については不明な点が多い。以前我々は、細胞接着分子である junctional adhesion molecule 1 (JAM1) および coxsackievirus and adenovirus receptor (CXADR) が歯肉上皮バリアの機能の維持に重要な役割を果たしていることを報告した。本研究では、タバコ抽出液 (cigarette smoke extract : CSE) を用いて、細胞接着分子への影響および歯肉上皮細胞層における異物透過性を解析した。【方法】CSE は Humedia KG-2 に KENT (British American Tobacco Japan), Marlboro (Phillip Morris) または Sevenstars (JT) を抽出し作製した。CSE を不死化ヒト歯肉上皮細胞に曝露後、JAM1 および CXADR のタンパク量の変化をウェスタンブロッティングにて、また両タンパク質の細胞内局在の変化を共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。透過性実験では、セルカルチャーインサート上で培養した歯肉上皮細胞に CSE を暴露するとともに蛍光トレーサーを添加し、3 時間後に上皮細胞層を透過したトレーサー量を評価した。【結果】CSE 曝露により、歯肉上皮細胞の JAM1 の局在が細胞膜から細胞内に移行した。また、CSE 曝露によりヒト歯肉上皮細胞層の異物透過性が亢進した。一方、CXADR の局在および発現量への影響は認められなかった。以上の結果より CSE は歯肉上皮細胞の JAM1 局在を変化させ、バリア機能を低下させることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Cigarette smoke extract decreases the barrier function of gingival epithelial cells

---

○Yamaga S, Takeuchi H, Amano A

Osaka Univ Dent Div Prev

Smoking is a major risk factor for the development and progression of periodontal disease, but its effect on the barrier function of gingival epithelial cells remains unclear. We previously reported that junctional adhesion molecule 1 (JAM1) and coxsackievirus and adenovirus receptor (CXADR) play important roles to maintain gingival epithelial barrier function. In this study, we used cigarette smoke extract (CSE) to analyze its effects on the barrier function. CSE exposure shifted the localization of JAM1 in gingival epithelial cells from the plasma membrane to the intracellular space. CSE also enhanced the permeability to *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide and peptidoglycan in human gingival epithelial tissues. On the other hand, negligible effect was observed on the localization and expression of CXADR. These results suggest that CSE alters the localization of JAM1 in gingival epithelial cells and impairs their barrier function.

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

---

---

## 2-PM25 口腔カンジダ症の病態を制御する病原真菌カンジダ由来の抗原の探索

---

○加地 英美<sup>1,2</sup>, 豊永 憲司<sup>1</sup>, 田崎 園子<sup>1</sup>, 永尾 潤一<sup>1,3</sup>, 岸川 咲吏<sup>1</sup>, 田中 芳彦<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>福歯大 機能生物 感染生物, <sup>2</sup>福歯大 診断・全身管理 麻酔, <sup>3</sup>福歯大 口腔医療セ

---

口腔カンジダ症は口腔内に常在する病原真菌 *Candida albicans* が原因となる日和見感染症であり, 高齢者や免疫不全患者などの生体防御能が著しく低下した易感染宿主において発症する. 高齢化が急速に進む我が国において, 口腔カンジダ症の患者数は増加しており, 社会的関心は高い. また, カンジダ感染症は難治性が高く, 有効な化学療法が望まれているが, 安全で有効な抗真菌薬は極めて少ない. 近年の報告で, *C. albicans* に対する宿主免疫応答として, サイトカイン IL-17A 産生を特徴とする Th17 細胞が重要な役割を果たすことが徐々に明らかになってきている. *C. albicans* 自体が Th17 への分化を誘導する抗原になると考えられるが, そのメカニズムはまだ不明な点が多い. 我々は, *C. albicans* 抗原に特異的な Th17 細胞による免疫応答を理解し, さらにこれを制御できれば, 口腔カンジダ症の制圧が可能になるのではないかと着想した. 本研究では, Th17 細胞の分化誘導に重要な *C. albicans* 由来の抗原性に着目し, 口腔カンジダ症における Th17 細胞による宿主免疫応答機構を解明することを長期的な目的としている. そのため我々は, ゲノムシーケンスが明らかになっている *C. albicans* SC5314 株を用い, 口腔カンジダ症のマウスモデルを構築している. また, *C. albicans* の菌体成分を種々の方法で分画することで, Th17 細胞を誘導する *C. albicans* 由来の抗原の探索を試みており, その経過についても報告する.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

### Exploration of antigens from the pathogenic fungus *Candida albicans* that regulate the pathogenesis of oral candidiasis

---

○Kaji E<sup>1,2</sup>, Toyonaga K<sup>1</sup>, Tasaki S<sup>1</sup>, Nagao J<sup>1,3</sup>, Kisikawa S<sup>1</sup>, Tanaka Y<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Sect Anesthesiol, Fukuoka Dent Coll, <sup>3</sup>Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll

---

Oral candidiasis is an opportunistic infection caused by pathogenic fungi *Candida albicans* in the oral cavity and occurs in immune compromised hosts. Recent studies have revealed that IL-17A producing T cells (Th17 cells) play an important role in host immune defense against *C. albicans*. However, the regulatory mechanism to induce the Th17 immune response by *C. albicans* remains unclear. We hypothesized that understanding and regulating the immune response by Th17 cells specific for *C. albicans* antigens may lead to the control of oral candidiasis. In this study, we developed a mouse model of oral candidiasis using *C. albicans* SC5314. We also tried to explore antigens from *C. albicans* to induce the Th17 cells differentiation.

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

---

---

## 2-PM26 口腔扁平上皮癌細胞における Deferriferrichrysin の細胞死誘導効果

---

○谷 暢<sup>1</sup>, 井関 富雄<sup>1</sup>, 沖永 敏則<sup>2</sup>, 真下 千穂<sup>2</sup>, 南部 隆之<sup>2</sup>, 円山 由郷<sup>2</sup>

<sup>1</sup>大歯大 院歯 口外一, <sup>2</sup>大歯大 細菌

---

目的：癌細胞は急速な DNA 合成のため正常細胞より高い鉄需要を有することから、癌に対する新たな治療薬として、鉄キレート剤が注目されている。近年、微生物から産生されるシデロフォアと呼ばれる天然の鉄キレート剤が癌細胞の増殖を抑制することが報告されている。Aspergillus oryzae およびその近縁種が生産する Deferriferrichrysin (Dfcy) はヒドロキサメートシデロフォアであり、高い親和性で第二鉄イオンと結合する能力を持つことで、新しいがん治療薬として期待されている。また、鉄キレート剤 Dp44mT はオートファゴソームの蓄積を促進させることで、癌細胞のアポトーシスを誘導させることが報告されている。そこで我々は、ヒト口腔癌細胞株 SAS 細胞および HSC-3 細胞に対する Dfcy の細胞毒性作用およびオートファジーの誘導について in vitro の実験系で検討した。材料と方法：Dfcy の鉄キレート能は、ferrozine 発色法を利用した Iron Assay Kit (Metallogenics) にて測定した。200 µg/dL に調製した鉄標準液を 0, 10, 50, 100, 500 および 1000 µg/mL の Dfcy で処理し、鉄量を測定した。SAS および HSC-3 細胞を 0, 250, 500, および 1000 µg/mL の Dfcy で処理し、細胞毒性については、WST-8 アッセイを用いて測定した。またアポトーシス、抗アポトーシス、オートファジーマーカーの発現については、ウエスタンブロット解析を用いて用量及び時間的に評価した。結果&結論：Dfcy は用量依存的に鉄をキレートした。SAS および HSC-3 細胞の生存率は、Dfcy 用量に依存して減少した。caspase-3, PARP などのアポトーシスマーカー、および LC3-II などのオートファジーマーカーの発現について、現在リアルタイム PCR およびウエスタンブロット解析を行っている。今回の研究で、Dfcy のヒト口腔癌細胞に対するアポトーシス誘導能について明らかにしていく。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### The effects of cell death induced by Deferriferrichrysin on oral squamous cell carcinoma cells

---

○Tani M<sup>1</sup>, Iseki T<sup>1</sup>, Okinaga T<sup>2</sup>, Mashimo C<sup>2</sup>, Nambu T<sup>2</sup>, Maruyama Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>First Dept Oral Maxillofac Surg, Osaka Dent Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Bacteriol, Osaka Dent Univ

---

Purpose: Recently, it has been reported that certain iron chelators such as siderophores inhibit the growth of cancerous cells. Deferriferrichrysin (Dfcy), a hydroxamate siderophore produced by Aspergillus oryzae and related species, can bind ferric ions with high affinity and is a promising therapeutic agent for new cancer treatment. Hence, we investigated the cytotoxic effects of Dfcy on human oral cancer cells in vitro. Materials & Methods: The iron chelation ability of Dfcy was measured by the Iron Assay Kit utilizing the ferrozine chromogenic method. Human oral squamous carcinoma SAS and HSC-3 cells were treated with 0, 250, 500, and 1000 µg/mL of Dfcy. Cell viability was measured using WST-8 assay. The apoptotic, anti-apoptotic, and autophagic markers were assessed by western blot analysis. Results & Conclusion: Dfcy chelated ferric iron in a dose-dependent manner. Dfcy inhibited cell proliferation of SAS and HSC-3 cells, dose dependently. The expression of apoptotic markers such as caspase-3 and PARP and autophagic marker LC3-II on Dfcy-treated SAS and HSC-3 cells will be investigated using Western blotting and Real-Time PCR. These results will reveal that Dfcy can be a potential anticancer agent for human oral cancer in the future.

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

---



## 2-PM27 健康な地域在住成人における舌細菌叢の年齢別特徴

○朝川美加李<sup>1</sup>, 竹下 徹<sup>1,2</sup>, 影山 伸哉<sup>1</sup>, 山下 喜久<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔予防, <sup>2</sup>九大 院歯 OBT 研究セ

【目的】歯の喪失などの口腔疾患の増加や免疫機能の低下など、我々の口腔内では加齢に伴い様々な変化が起こると共に、口腔細菌叢も変化していることが推測されるが、その詳細は未だ不明な点が多い。本研究は20歳から80歳までの舌苔の細菌構成を解析し、各年齢における舌細菌叢の特徴について検討を行った。

【方法】対象者は20歳代(n=71)、40歳(n=42)、50歳(n=35)、60歳(n=53)、70歳(n=35)、80歳(n=35)の成人271人とし、舌苔採取を行った。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。また、定量PCR法を用いて舌背部単位面積あたりの総細菌数、総真菌数を測定した。

【結果】主成分分析の結果、対象者の舌細菌叢の細菌構成は各年齢で有意に異なり、年齢の上昇につれ *Veillonella*, *Prevotella* などの菌属が寄与する第一主成分の正方向に移動していた。クラスター解析の結果、対象者の舌細菌叢は *Streptococcus salivarius*, *Prevotella histicola* などが優勢なタイプ1 (n=113) と *Neisseria subflava*, *Porphyromonas pasteri* などが優勢なタイプ2 (n=158) に分類され、タイプ1の者の割合および総細菌数、総真菌数は、年齢の上昇につれ有意に増加していた。タイプ1の者は、タイプ2の者と比べ現在歯数が有意に少なく、高いう蝕経験歯率や歯周状態の不良が認められた。

【結論】以上より、これまでに口腔環境の悪化や肺炎関連死亡との関連が報告されている細菌構成パターンが年齢の高い者で増加していることから、舌細菌叢の細菌構成は年齢とともに悪化する可能性が示唆された。

【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。

## Age-related characteristics in the tongue microbiota in community-dwelling individuals

○Asakawa M<sup>1</sup>, Takeshita T<sup>1,2</sup>, Kageyama S<sup>1</sup>, Yamashita Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sect Prevent Dent Public Health, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Aging is associated with oral environment changes including tooth loss, periodontitis, or immune system decline. Tongue microbiota changes with age remain largely unclear. This study analyzed tongue microbiota composition and microbial density of 271 community-dwelling adults aged  $\geq 20$  years by 16S rRNA gene amplicon sequencing approach using Ion PGM and quantitative PCR analysis, respectively. A principal component analysis (PCA) biplot demonstrated that the bacterial compositions were significantly different by age, and the first principal component dominated by *Veillonella* and *Prevotella* was positively associated with age. Tongue microbiota was classified into two bacterial community types using by partitioning around medoids (PAM) clustering analysis: type 1 (n=113) was dominated by *Streptococcus salivarius* and *Prevotella histicola*, while type 2 (n=158) was dominated by *Neisseria subflava* and *Porphyromonas pasteri*. The proportion of type 1 microbiota and microbial density gradually increased according to aging. The subjects with type 1 microbiota were significantly associated with poorer oral health than those with type 2 microbiota. These results suggest that tongue microbiota could be changed with age to the bacterial community type that has been reported to be associated with poorer oral health and pneumonia-related death. (Non-member collaborators: Michiko Furuta, Shino Suma.)

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

---

## 2-PM28 母乳育児が乳児の口腔マイクロバイオームの早期成熟を妨げる

---

○影山 伸哉, 竹下 徹, 馬 佳楽, 朝川美加李, 山下 喜久  
九大 院歯 口腔予防

【目的】 母親由来口腔細菌の獲得は、乳幼児期の口腔マイクロバイオーム形成において重要な役割を果たすと考えられている。本研究では、母親から乳児への口腔細菌伝播を高精度に評価し、それに影響を与える要因を特定することを目的とした。

【方法】 福岡市東区の4か月児健診を受診した448名の乳児（双子4組を含む）とその母親から舌スワブ検体を採取した。得られた892検体からDNAを抽出したのち、細菌共通配列であるプライマー8F、1492Rを用いて16S rRNA遺伝子の全長を網羅的に増幅した。増幅断片の塩基配列は1分子リアルタイムDNAシーケンサーのPacBio Sequel IIを用いて解読し、amplicon sequence variant (ASV) 解析によって各検体の細菌構成を一塩基レベルで明らかにした。この手法により、16S rRNA遺伝子全長の塩基配列が完全に一致した細菌を母子間で探索することで、口腔細菌の母子伝播を高解像度に評価できる。

【結果】 乳児の細菌構成は母親の細菌構成と大きく異なっていたが、乳児で検出されたASV数の16.7% (0-75%) が生物学的母親と共有され、それらが構成比率9.7% (0-99.3%) を占めていた(数値は中央値 [範囲])。この構成比率は、分娩様式や抗菌薬服用の有無ではなく乳児の栄養方法と強く関連しており、完全母乳栄養児と比較して人工乳栄養児や混合栄養児で有意に高かった。

【結論】 4か月児の口腔マイクロバイオームにおいて、口腔細菌の母子伝播が菌株レベルで確認された。また、母乳育児が乳児の口腔マイクロバイオームの早期成熟を妨げ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。

---

## Breastfeeding prevents early maturation of oral microbiota in infants

---

○Kageyama S, Takeshita T, Ma J, Asakawa M, Yamashita Y  
Sect Prevent Dent Public Health, Kyushu Univ Grad Sch Dent

Background: Acquisition of maternal oral microbes is considered to play an important role in the development of infant oral microbiota. In this study, we evaluated oral microbial transmission from mother to infant and identified the factors influencing transmission.

Methods: We collected tongue swab samples from 448 mother–infant pairs at 4-month checkup. The bacterial composition of each sample was determined using PacBio single-molecule long-read sequencing of the full-length 16S rRNA gene and the amplicon sequence variant (ASV) approach.

Results: Although the infant oral microbiota was distinctly different from the mother oral microbiota, 16.7% (0–75%) of total ASV number were shared with their biological mother and they accounted for 9.7% (0–99.3%) of relative abundance in each infant microbiota (median [range]). This shared abundance was strongly associated with the feeding method of infants rather than their delivery mode or antibiotic exposure, and formula- and mixed-fed infants had higher shared abundance than exclusively breastfed infants.

Conclusions: Our study presents strain-level evidence for mother-to-infant transmission of oral bacteria and suggests that breastfeeding may prevent early maturation of oral microbiota in infants.

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

---

---

## 2-PM29 *Scardovia wiggisiae* の増殖促進因子の検討

---

○亀田 真衣<sup>1,2</sup>, 安彦 友希<sup>1</sup>, 鷺尾 純平<sup>1</sup>, 佐藤 聡子<sup>1</sup>, 高橋 信博<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東北大 院歯 口腔生化, <sup>2</sup>東北大 院歯 顎口腔矯正

---

【目的】*Scardovia wiggisiae* は早期小児う蝕 (Early Childhood Caries, ECC) から多く検出されることが報告されており, 我々はこれまでに *S. wiggisiae* の持つ酢酸産生を主体とする糖代謝および糖代謝のフッ化物耐性といったう蝕関連性について検討してきた (Kameda et al., 2020). 一方, *S. wiggisiae* は血清によって増殖が促進されることから, 他のう蝕関連細菌とは異なる栄養要求性を有していると考えられる. 血清による増殖促進を示す *Haemophilus influenzae* では NAD を要求することが知られていることから, 本研究では NAD の前駆体の一つであるニコチンアミド (Nam) の *S. wiggisiae* 増殖促進効果について検討した.

【方法】*S. wiggisiae* C1A55 株を血液寒天培地上で 5 日間, 37°C で嫌気培養した. 得られたコロニーを TYG (tryptone, yeast, glucose) 液体培地に懸濁し菌懸濁液を作成した. 段階的に希釈した Nam (0.5, 1, 2, 4, 8, 16 mg/ml) を菌懸濁液に加え嫌気条件, 37°C で培養した. 細菌の増殖は培養液の 660 nm における濁度から求めた.

【結果】Nam 濃度 0.5~8 mg/ml で増殖促進が認められ, 16 mg/ml では増殖は促進しなかった. 増殖促進のピークは 8 mg/ml で, コントロール (Nam 非添加) と比べると吸光度は  $3.86 \pm 0.40$  倍 ( $p < 0.01$ ) に増加した.

【考察】本研究により, *S. wiggisiae* の Nam による増殖促進効果が認められた. Nam は NAD の前駆体の一つであり, *S. wiggisiae* においては, Nam から NAD を合成している可能性が考えられる. ECC 患者の口腔内は清掃不良による歯肉の炎症が生じており, それに伴い出血や歯肉細胞の破壊によって血清成分が供給されると予測され, そこに含まれる Nam などによって *S. wiggisiae* の増殖が促進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.

---

### Growth promoting factors of *Scardovia wiggisiae*

---

○Kameda M<sup>1,2</sup>, Abiko Y<sup>1</sup>, Washio J<sup>1</sup>, Sato S<sup>1</sup>, Takahashi N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Div Orthod Dentofac Orthop, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

We have previously reported the caries-associated properties of *S. wiggisiae*, such as carbohydrate metabolism with mainly acetate production and its fluoride tolerance (Kameda et al., 2020). On the other hand, *S. wiggisiae* growth is promoted by serum, suggesting that this bacterium has different nutritional requirements from other caries-associated bacteria. Since *Haemophilus influenzae*, which shows growth promotion by serum, is known to require NAD, this study examined the effect of nicotinamide (Nam), one of the precursors of NAD, on *S. wiggisiae* growth promotion.

*S. wiggisiae* C1A55 strain was inoculated to TYG medium and anaerobically incubated with serially dilutions of Nam (0.5, 1, 2, 4, 8, 16 mg/ml) at 37°C. Bacterial growth was determined by the optical density at 660 nm of the culture.

Bacterial growth was promoted at Nam concentrations of 0.5–8 mg/ml, but not at 16 mg/ml. Growth promotion peaked at 8 mg/ml, and absorbance increased 3.86-fold compared to the control.

The present study showed that Nam promoted the growth of *S. wiggisiae*. Nam is one of the precursors of NAD, suggesting that *S. wiggisiae* synthesizes NAD from Nam. The growth of *S. wiggisiae* may be promoted by Nam and other substances contained in serum.

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

---

## 2-PM30 口腔から分離されたセファロスポリン耐性グラム陰性菌に対する消毒剤感受性

○春田 梓<sup>1</sup>, 松尾 美樹<sup>2,3</sup>, 吉川 峰加<sup>1</sup>, 竹内 真帆<sup>1</sup>, Le Nguyen Tra Mi<sup>2,3</sup>,  
津賀 一弘<sup>1</sup>, 小松澤 均<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>広大院医 補綴, <sup>2</sup>広大院医 細菌, <sup>3</sup>広大院 院内感染症プロジェクト研究セ

【目的】 グラム陰性薬剤耐性菌に対する消毒剤の効果を明らかにすること

【方法】 広島県内の介護施設における入居者の口腔および便から分離したセファロスポリン耐性グラム陰性菌である臨床分離株を用いて、口腔内に用いられる消毒剤であるポビドンヨード (PVPI), 塩化セチルピリジニウム (CPC), 塩化ベンザルコニウム (BZK) およびグルコン酸クロルヘキシジン (CHX) の最小発育阻止濃度 (MIC) を測定し、各菌株における感受性を検討した。ゲノムデータをもとに、消毒剤耐性の原因遺伝子の検出、Multilocus Sequence Typing (MLST) および系統樹解析を行った。また、対象者の臨床情報の収集および抗菌薬感受性試験を行った。

【結果と考察】 消毒剤感受性について、PVPI の MIC 値はすべての臨床分離株で洗口液の使用濃度以下を示したが、CPC, BZK および CHX の MIC 値は菌種・菌株によって幅広く異なることが明らかとなった。消毒剤耐性に関与する原因遺伝子の有無と感受性を確認したところ、消毒剤耐性遺伝子 *qacEΔ1* は *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *E. cloacae* に認められ、*P. aeruginosa* では遺伝子保有株の CPC および BZK に対する感受性が低く、統計学的有意差を認めた。口腔から耐性菌が検出された 38 名のうち 9 名から口腔と便で共通の菌種が認められ、解析できた 7 名のうち 5 名で ST タイプや耐性遺伝子、抗菌薬および消毒剤感受性が一致した。口腔の耐性菌保有者で、年齢と性別を含む多変量解析を行った結果、CPC 耐性と経管栄養の関連性が認められた。本研究の結果から、経管栄養を行う際には、皮膚やチューブに対して有効な消毒剤を用いる必要性が示された。さらに、口腔に存在するグラム陰性薬剤耐性菌の一部が消毒剤耐性も獲得していることが明らかになったことから、口腔ケア等の際には適切な消毒剤の選択と使用が重要であることが考えられる。(広島大学倫理委員会 E-1692-1 号, 国立感染症研究所倫理委員会 1017 号)

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

## Susceptibility of disinfectants against cephalosporin-resistant Gram-negative bacteria isolated from oral cavity

○Haruta A<sup>1</sup>, Matsuo M<sup>2,3</sup>, Yoshikawa M<sup>1</sup>, Takeuchi M<sup>1</sup>, Le MN<sup>2,3</sup>, Tsuga K<sup>1</sup>,  
Komatsuzawa H<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Dept Adv Prosthodont, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci, <sup>2</sup>Dept Bacteriol, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci, <sup>3</sup>Project Res Cent, Nosocomial Infect Dis, Hiroshima Univ

We evaluated the susceptibility of cephalosporin-resistant Gram-negative bacteria from oral and stool of residents in nursing homes of Hiroshima against 4 disinfectants (povidone-iodine (PVPI), cetylpyridinium chloride (CPC), benzalkonium chloride (BZK) and chlorhexidine chloride (CHX)) which are applied to oral cavity. MIC of PVPI showed below the concentration used for mouth wash, while MIC of CPC, BZK and CHX showed wide range. The susceptibility to disinfectants was quite different among species/strains. After investigated existence of disinfectant resistance genes, we found *qacEΔ1* gene in strains of some species, and the correlation of this gene with CPC/BZK resistance in only *P. aeruginosa*. By comparing the genome of the strains with same species isolated from oral and stool in one person, 5 of 7 subjects showed the same ST type, resistance genes and susceptibility to antibiotics and disinfectants. Multivariate analyses showed resistant to CPC was associated with tube feeding. Therefore, the study indicated the need to use effective disinfectants on the skin and tube when tube feeding is used. We found that some oral-derived GN-ARB strains showed a resistance not only antibiotics but also disinfectants, so these results suggest that the application of disinfectants during oral care should be used carefully.

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



---

## 2-PM31 表皮ブドウ球菌が産生するヌカシンに対するう蝕原性細菌 *Streptococcus mutans* の耐性メカニズム

---

○貞岡 直樹<sup>1</sup>, 松尾 美樹<sup>2</sup>, Le Mi<sup>2</sup>, 柴 秀樹<sup>1</sup>, 小松澤 均<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 広島 院医 歯髄生物, <sup>2</sup> 広島 院医 細菌

---

目的: *Streptococcus mutans* は抗菌性ペプチド(バクテリオシン)に対して耐性を持つ。以前に松尾らが皮膚常在細菌 *Staphylococcus warneri* ISK-1 が産生するヌカシンの耐性因子として ABC トランスポーターである LctEFG を報告している。本研究では LctFEG 以外のヌカシン耐性因子を明らかにし *S. mutans* のヌカシン感受性の多様性について検証することが目的である。方法: ゲノム情報が明らかになっている *S. mutans* 126 株を使用した。 *S. warneri* と同様にヌカシン産生株である *S. epidermidis* KSE650 を用いた Direct 法によりヌカシン感受性試験を行った。ヌカシンの精製は既報に従い、表皮ブドウ球菌 KSE650 株の培養上清を用いて最終的には HPLC により調整した。遺伝子欠損株作製は薬剤耐性遺伝子置換により行った。定量性 PCR 法によりヌカシン耐性に関与する遺伝子の発現を検証した。結果: *S. mutans* 126 株のヌカシン感受性に多様性を認めた。 *S. mutans* ゲノム情報から、ヌカシン耐性遺伝子である LctFEG の LctF 遺伝子に変異を認める株 (Type I 株) を見いだした。 Type I 株では、LctFEG の機能が消失しているにも関わらずヌカシン耐性を保持していた。 Type I 株の多くはヌカシンと構造類似性を持つ Mutacin K8 をコードする遺伝子群 (mukA-T) を認める。その近傍に存在する ABC トランスポーター ScnFEG に着目した。検証した結果、ScnFEG がヌカシン耐性に関与すること、Type I 株の ScnF は Type I 以外の株の ScnF と比較し 3 アミノ酸の挿入を認めた。LctF と ScnF の変異に着目し 126 株を詳細に検証した結果、mukA-T 領域の有無により ScnF または LctF の変異を生じる傾向を認め遺伝子構成が 7 グループに分類された。考察: LctF と ScnF の遺伝子型に関連性があることが明らかとなり、今回、新たなヌカシン耐性因子である ScnF が明らかになった。今後は、この耐性を担う因子の遺伝子発現調節因子の解析とともに、2つのトランスポーターの存在意義を詳細に検証する予定である。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Resistance mechanism of cariogenic bacteria *Streptococcus mutans* to nukacin produced by *Staphylococcus epidermidis*

---

○Sadaoka N<sup>1</sup>, Matsuo M<sup>2</sup>, LE NGUYEN TRA M<sup>2</sup>, Shiba H<sup>1</sup>, Komatsuzawa H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci Dept Biol Endod, <sup>2</sup>Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci Dept Bacteriol

---

Purpose: *Streptococcus mutans* is resistant to antimicrobial peptides. Previously, Matsuo et al. reported LctEFG, an ABC transporter, as a resistance factor for nukacin produced by *Staphylococcus warneri* ISK-1. The objective of this study was to clarify the nukacin resistance factors other than LctFEG and to verify the diversity of nukacin susceptibility in *S. mutans*. Methods: We used 126 strains of *S. mutans* for which genomic information was available, and performed nukacin susceptibility testing by the Direct method using *S. epidermidis* KSE650, a nukacin-producing strain similar to *S. warneri*. Result: The Type I strain showed a mutation in the LctF, a nukacin resistance gene, and retained nukacin resistance despite the loss of LctFEG function. We focused on the ABC transporter ScnFEG in its vicinity. Focusing on this mutation of LctF and ScnF, we examined 126 strains in detail and found a tendency for mutation of ScnF or LctF depending on the presence or absence of the mukA-T region, and the genetic composition was classified into 7 groups. Discussion: The genotypes of LctF and ScnF were found to be related, and a new nukacin resistance factor, ScnF, was identified in this study. In the future, we plan to examine the significance of the two transporters.

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

---

## 2-PM32 歯周病原菌の外膜小胞がもたらすアルツハイマー型認知症発症機構の解明

○吉田 佳世<sup>1</sup>, 吉田 賀弥<sup>2</sup>, 瀬山真莉子<sup>1</sup>, 尾崎 和美<sup>1</sup>

<sup>1</sup>徳大 院医歯薬 口腔保健支援, <sup>2</sup>徳大 院医歯薬 口腔保健教育

多くの疫学的研究により、歯周病がアルツハイマー型認知症の発症リスクを高めることが報告されているが、その詳細な分子機構は未だ不明である。本研究では *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) の外膜小胞 (Outer membrane vesicles, OMVs) に着目し、歯周病とアルツハイマー型認知症との関連性を検証した。

*Pg* 培養液より抽出した OMVs を、Balb/c マウスに週 2 回の頻度で 12 週間、腹腔内投与した。その後、オープンフィールド試験・Y 字型迷路試験によりマウスの認知機能を測定した。またマウスより脳を摘出し、*Pg* OMVs の脳への移行やアルツハイマー型認知症を示す病態変化 (神経炎症、ミクログリア活性化、Tau リン酸化) を、リアルタイム PCR 法、WB 法、免疫染色法を用いて解析した。一方、ヒトミクログリア細胞株 HMC3 細胞に *Pg* OMVs を添加し、炎症性サイトカインの遺伝子発現を検出した。

*Pg* OMVs 投与マウスの脳室周辺では *Pg* OMVs が含有するプロテアーゼ gingipain や活性化ミクログリアが検出された。また、コントロール群と比較して、Tau のリン酸化が亢進していた。しかし、同マウスにおいて神経炎症に関与する遺伝子の発現亢進や、認知機能障害や脳萎縮・脱髄などの病理所見はみとめられなかった。さらに HMC3 細胞において、*Pg* OMVs は gingipain 依存的に炎症性サイトカインの遺伝子発現を亢進した。

これらの結果は、血液中の *Pg* OMVs が脳へ到達し、炎症を誘導して、アルツハイマー型認知症の進行に関与する可能性を示唆している。今後、より長期間の *Pg* OMVs 投与が慢性的な脳神経炎症を誘導し、マウスの認知機能を低下させるかを精査する必要がある。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

## The roles of outer membrane vesicles of periodontal pathogens on development of Alzheimer's disease

○Yoshida K<sup>1</sup>, Yoshida K<sup>2</sup>, Seyama M<sup>1</sup>, Ozaki K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Health Care Promo, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, <sup>2</sup>Dept Oral Health Care Educ, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

In this study, we examined the association between periodontal disease and Alzheimer's disease (AD) by focusing *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) outer membrane vesicles (OMVs).

OMVs were extracted from culture medium of *Pg*, and intraperitoneally injected into Balb/c mice twice a week for 12 weeks. The cognitive functions of mice were assessed by Open field and Y-maze tests. *Pg* translocation and the pathological features of AD in mice brains were analyzed by qPCR, WB, and immunostaining. The effects of *Pg* OMVs on gene expression of inflammatory cytokines were analyzed by qPCR in human microglial HMC3 cells.

Gingipains and activated microglia were detected around the cerebral ventricles in the brain from *Pg* OMVs-treated mice. In these brain, Tau phosphorylation was also increased, whereas the expression of inflammation genes was not altered. *Pg* OMVs did not induce cognitive dysfunction, brain atrophy, and demyelination. In HMC3 cells, *Pg* OMVs increased gene expression of proinflammatory cytokines in a gingipain-dependent manner.

Our results suggested that *Pg* OMVs in the blood may reach to the brain, and induce microglial activation, leading to progression of AD. Future studies were needed to investigate whether longer-periods administration of *Pg* OMVs induce chronic cerebral neuroinflammation with impaired cognitive functions.

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

## 2-PM33 肺炎球菌を感染させた三次元肺組織モデルにおける上皮バリアの機能障害と炎症応答の解析

○赤松由佳子<sup>1,2</sup>, 住友 倫子<sup>1</sup>, 高原 悠樹<sup>1,3</sup>, 山口 雅也<sup>1</sup>, 中田 匡宣<sup>4</sup>, 明石 満<sup>5</sup>, 川端 重忠<sup>1</sup>

<sup>1</sup>阪大 院歯 口腔細菌, <sup>2</sup>阪大 院歯 障害歯, <sup>3</sup>阪大 院歯 クラウンブリッジ, <sup>4</sup>鹿大 院歯 口腔微生物, <sup>5</sup>阪大

【目的】肺上皮は、恒常的に晒される病原微生物の侵入に対して、生体防御の最前線となる。病原体とヒト肺組織の相互作用に関する解析は、肺炎病態の形成機構を理解する上で重要である。しかし、従来の動物モデルや二次元培養肺組織モデルでは、感染宿主特異性やヒトの正確な応答を再現できないという問題点があった。本研究では、交互積層細胞コート法を用いて三次元肺組織を作製し、肺炎球菌の感染による上皮バリアの機能障害および炎症応答を解析した。

【方法】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用いた細胞コート法により、ヒト正常肺線維芽細胞とヒト細気管支上皮細胞 (Calu-3) から構成される三次元肺組織モデルを構築した。この上皮極性を有する三次元肺組織モデルと従来の二次元培養モデル (Calu-3) に肺炎患者由来の肺炎球菌 D39 株 (血清型 2) を頂端部位から感染させた。所定時間が経過した後、感染上皮における経上皮電気抵抗 (TEER) 値の測定および免疫蛍光染色による組織バリア機能の評価を行った。また、培養上清中の炎症性サイトカイン濃度は ELISA により測定した。

【結果】肺炎球菌を感染させた三次元肺組織モデルでは、二次元肺組織モデルでの場合と比較して、TEER 値の著しい低下が認められた。また、三次元肺組織モデルの免疫蛍光染色像より、E-カドヘリンの染色性低下と肺線維芽細胞層への肺炎球菌の侵入を認めた。さらに、肺炎球菌を感染させた三次元組織モデルでは、二次元肺組織モデルと比較して、培養上清中の IL-6 濃度が上昇した。

【結論・考察】肺炎球菌が感染した三次元肺組織において、感染肺線維芽細胞から産生される IL-6 は肺上皮バリアの機能障害や肺炎の増悪に寄与することが示唆された。また、三次元肺組織モデルは、肺炎球菌の感染に対する高い感受性を示したことから、ヒトの肺炎病態を反映してい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。

## Analysis of lung epithelial barrier dysfunction and inflammatory response using three-dimensional lung tissue model infected with *Streptococcus pneumoniae*

○Akamatsu Y<sup>1,2</sup>, Sumitomo T<sup>1</sup>, Takahara Y<sup>1,3</sup>, Yamaguchi M<sup>1</sup>, Nakata M<sup>4</sup>, Akashi M<sup>5</sup>, Kawabata S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Div Spec Needs Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Fixed Prosthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>4</sup>Dept Oral Microbiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>5</sup>Osaka Univ

Lung epithelial cells are the first line of defense against pulmonary infection. Recently, three-dimensional (3D) in vitro lung tissue models have been developed to investigate biological responses. Using a layer-by-layer (LbL) cell coating technique, we previously constructed such a 3D lung tissue model consisting of human primary pulmonary fibroblast cells and a human lung epithelial cell line (Calu-3). The LbL cell coating technique is utilized to form nanofilms composed of fundamental extracellular matrix (ECM) proteins, as ECM nanofilms promote binding of adjacent cells, which allows for rapid construction of multilayered tissue. Here, we analyzed the barrier function of a 3D lung tissue model infected with *Streptococcus pneumoniae*. As compared with a 2D model of infection, 3D model demonstrated a marked decrease in trans-epithelial electrical resistance. Immunofluorescence staining of the 3D model also showed decreased fluorescent intensity for E-cadherin and pneumococcal invasion into pulmonary fibroblast layers. Furthermore, the IL-6 level in culture supernatants from the infected 3D lung model was elevated, which was not observed with the 2D model. These results suggest that IL-6 produced from pulmonary fibroblast cells contributes to dysfunction of the lung epithelial barrier and exacerbation of pneumococcal pneumonia.

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

---

## 2-PM34 口腔扁平上皮癌細胞の3次元培養法の確立と評価

---

○池田 礼子<sup>1,2</sup>, 岩永賢二郎<sup>2</sup>, 山崎 亮太<sup>1</sup>, 吉岡 香絵<sup>1</sup>, 有吉 渉<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九歯大 感染分子生物, <sup>2</sup>九歯大 口腔内科

---

【目的】細胞同士が凝集した球状の集合体（スフェロイド）を大量に作製可能なデバイスを用いて、口腔癌組織の環境を模倣した3次元培養を行い、その特性について2次元培養と比較検証を行うことを目的とした。

【方法】ヒト舌扁平上皮癌細胞株（HSC-3）およびヒト歯肉扁平上皮癌細胞株（Ca9-22）をそれぞれ培養し、非接着処理を施したマイクロウェルチップ上に播種した。形成されたスフェロイドに対して形態観察と直径の計測およびLIVE/DEAD assayによるスフェロイド構成細胞の生死判定を行った。さらに、スフェロイド内の細胞の遺伝子発現プロファイルについてreal-time RT-qPCR法を用いて解析した。また、シスプラチン添加後の2次元培養群・3次元培養群それぞれの癌細胞の生存率をWST-8 assayを用いて比較した。

【結果と考察】デバイス上に播種したHSC-3とCa9-22は、培養5日目にかけて徐々に凝集し、辺縁平滑なスフェロイドを形成した。LIVE/DEAD染色では培養5日目においても、スフェロイド内部は生細胞を主体に構成されていることが示された。また、幹細胞マーカーの*CD44*・*Oct4*・*Nanog*・*Sox2*と低酸素性マーカー*VEGF*の遺伝子発現量は、スフェロイド群では2次元培養群と比較していずれも亢進していることが確認された。さらに、スフェロイドを接着性プレートに再播種し、2次元条件下でoutgrowthさせた癌細胞も2次元培養群と比較して幹細胞マーカーの発現の亢進が維持されていた。シスプラチン添加後の生存細胞の割合は、2次元培養群に対してスフェロイド群で増加しており、抗がん剤に対する抵抗性の亢進が示唆された。

【結論】開発したデバイスは生態環境に近い口腔癌スフェロイドを大量かつ均一に作製可能であることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Establishment and evaluation of a three-dimensional culture system for oral squamous cell carcinoma cells

---

○Ikeda R<sup>1,2</sup>, Iwanaga K<sup>2</sup>, Yamasaki R<sup>1</sup>, Yoshioka Y<sup>1</sup>, Ariyoshi W<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ, <sup>2</sup>Div Oral Med, Kyushu Dent Univ

---

The purpose of this study was to establish protocols for 3D spheroid culture of oral cancer cells using fabricated microwell chip and to accentuate the differences in their features with respect to 2D cell culture methods.

Human tongue squamous cell carcinoma cell line (HSC-3) and human gingival squamous cell carcinoma cell line (Ca9-22) were cultured and seeded onto PEG-coated microwell chips, respectively. The cells cultured in our microwell chips gradually aggregated and form smooth-edged spheroids by day 5 of culture. LIVE/DEAD staining showed that the formed spheroids was composed mainly of viable cells even at day 5 of culture. In addition, gene expression levels of stem cell markers and hypoxic markers were both enhanced in the spheroid group compared to the 2D culture group. Cancer cells expanded from spheroid in outgrowth also maintained enhanced expression of stem cell markers. Furthermore, the WST-8 assay suggested increased anticancer drug resistance in the spheroid group compared to the 2D culture group. The fabricated device is capable of producing a large amount of homogeneous spheroids and could potentially provide a high-throughput approach to elucidate the molecular mechanism that regulate pathophysiology of oral cancer.

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

---



---

## 2-PM35 シェーグレン症候群モデルマウス肺病変におけるケモカインの機能分析

---

○佐藤 真美, 大塚 邦紘, 常松 貴明, 石丸 直澄

徳大 院医歯薬 口腔分子病態

シェーグレン症候群 (SS) は涙腺・唾液腺といった外分泌腺の乾燥症状を特徴とする自己免疫疾患で、ドライマウスやドライアイによる患者 QOL の低下が問題となる。SS では病期の進行により病変が全身臓器にも及ぶ腺外型 SS や、悪性リンパ腫を合併することがある。腺外型の症状はさまざまな臓器に生じるが本研究では肺病変に着目して、腺病変との比較によりその発症機序を明らかにすることを目的とした。実験には生後 3 日目に胸腺摘出術を実施した NFS/*sld* マウスを SS モデルマウスとして使用し、病理組織学的検討・分子生物学的検討を行った。本 SS モデルマウスでは、肺に B 細胞を主とする炎症細胞浸潤が見られ、CD4 陽性 T 細胞が主に浸潤する唾液腺とは異なっていた。B 細胞の表現型に注目すると、SS モデルマウスでは CD23 陽性の濾胞 B 細胞の増加が見られた。また、定量 PCR にて SS モデルマウス肺組織では多数のケモカインやケモカイン受容体の発現亢進を認め、CXCL13 (B lymphocyte chemoattractant) とその受容体である CXCR5 の発現も増加していた。組織免疫染色を実施すると CXCL13 は SS モデルマウス肺の血管内皮細胞に陽性像を示した。また、SS モデルマウス肺組織では GATA3, IL-4 に加え、CXCL13 産生に関与すると報告のある IL-13 の発現亢進を認め、Th2 型の免疫応答にシフトしている可能性が考えられた。現在、SS モデルマウス肺における T 細胞の機能や CXCL13 が B 細胞に与える影響などを検討中である。牛尾綾, 新垣理恵子

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Functional analysis of chemokines in pulmonary lesion of Sjogren's syndrome model mice

---

○Sato M, Otsuka K, Tsunematsu T, Ishimaru N

Dept Oral Mol Pathol Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

Sjogren's syndrome (SS) is an autoimmune disease characterized by dry symptoms due to exocrine gland destruction. In addition, extraglandular lesions and malignant lymphoma are well known in SS. In this research, we focused on the pulmonary lesion and aimed to clarify the pathogenic mechanism. In the experiment, NFS/*sld* mice that underwent thymectomy on the third day after birth were used as SS model mice. In this SS model mice, infiltration of follicular B cells was mainly observed in the lung, which was different from the salivary gland. In addition, increased expression of many chemokines and their receptors were detected by q-RT-PCR in the lung tissue of SS model mice. Moreover, increased expression of CXCL13 and its receptor, CXCR5 were found in the lung tissue of SS model mice. Immunohistochemical analysis showed that CXCL13 expression was observed in the vascular endothelial cells of the lung from SS model mice. IL-13 expression was increased in the lung tissue of SS model mice as well as GATA3 and IL-4 expression, suggesting a shift to Th2 immune response. Currently, we are investigating the function of T cells and the effect of CXCL13 on B cells in the lung of SS model mice.

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

---

---

## 2-PM36 Photodynamic Therapy に最適なアップコンバージョン粒子と腫瘍親和性光感受性物質との組合せ濃度

---

○崔 晋豪, 磯野 治実, 岡村 友玄, 富永 和也

大歯大 口腔病理

【背景】光線力学療法 (Photodynamic therapy, PDT) が悪性腫瘍の新治療法として医学分野で臨床応用されているが, その効果は表面下 2~3 mm までである. そこで, アップコンバージョン粒子 (UC) を介入させ, 長波長の光源を利用することで, より深部の癌に対して PDT を実施して治療することを目的とし, 今回は, UC と腫瘍親和性光感受性物質 (TP) との最適な組合せ濃度を舌の扁平上皮癌由来細胞を用いて *in vitro* で観察した. 【方法】舌の悪性腫瘍由来細胞株 HSC-3 に対して PDT (波長 = 980nm) を行うこととし, UC として NaYF<sub>4</sub>:Yr/Er (NaYF<sub>4</sub>) を, TP としてクロリン (Ce6) を選択し, それぞれの濃度を 0~100ng/μL にして, 単独あるいは両者を培養液に加えて PDT を実施した場合の HSC-3 の生細胞数を, MTT assay と一重項酸素の発生とを指標にして観察した. 【結果と考察】NaYF<sub>4</sub> と Ce6 とをそれぞれ 0.1, 1.0, 10.0 および 100.0 ng/μL の濃度の組合せで MTT assay を行うと, NaYF<sub>4</sub> が 0.1 あるいは 1.0 ng/μL, Ce6 が 0.1 あるいは 0.5 ng/μL の組合せにして光を照射したときに細胞増殖が有意に抑制された. 同様の条件で, 一重項酸素を観察すると, NaYF<sub>4</sub>: 0.1ng/μL + Ce6: 0.5ng/μL, NaYF<sub>4</sub>: 1.0ng/μL + Ce6: 0.5ng/μL および NaYF<sub>4</sub>: 1.0ng/μL + Ce6: 1.0ng/μL の組合せのときに発生が有意に上昇した. NaYF<sub>4</sub> と Ce6 とは, いずれも濃度依存性に細胞毒性を示すことから, NaYF<sub>4</sub>: 0.1ng/μL + Ce6: 0.5ng/μL の組合せが PDT には最も効果的であることが示唆された.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

## The most appropriate combination of up-conversion particles and tumor-affinity photosensitive substances for photodynamic therapy

---

○Cui J, Isono H, Okamura T, Tominaga K

Dept Oral Pathol, Osaka Dent Univ

The purpose of this study is to implementing the photodynamic therapy (PDT) to treat deeper cancers by intervening the up-conversion particles (UC) and utilizing a long-wavelength light source. We observed the optimal combination concentration of UC and tumor-affinity photosensitive substance (TP) *in vitro*, using cell line HSC-3 derived from squamous cell carcinoma of the tongue in the present study. PDT (wavelength = 980 nm) was performed on HSC-3, with NaYF<sub>4</sub>:Yr/Er (NaYF<sub>4</sub>) selected as UC and chlorin (Ce6) as TP. The concentration of NaYF<sub>4</sub> and Ce6 at 0.1, 1.0, 10.0 and 100.0 ng/μL, respectively. In the MTT assay, the combination of concentrations of 0.1 or 1.0 ng/μL NaYF<sub>4</sub> and 0.1 or 0.5 ng/μL Ce6 significantly inhibited cell proliferation. A significant increase in the evolution of singlet oxygen was observed when the combinations of NaYF<sub>4</sub>: 0.1 ng/μL + Ce6: 0.5 ng/μL, NaYF<sub>4</sub>: 1.0 ng/μL + Ce6: 0.5 ng/μL and NaYF<sub>4</sub>: 1.0 ng/μL + Ce6: 1.0 ng/μL were used. But both NaYF<sub>4</sub> and Ce6 have a dose-dependent cytotoxicity. It was suggested that the combination of NaYF<sub>4</sub>: 0.1 ng/μL + Ce6: 0.5 ng/μL was the most effective for PDT.

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

---

---

## 2-PM37 ChIP-seq を用いた胎生期マウス顎下腺組織における Foxc1 による発現制御遺伝子の網羅的解析

---

○行森 茜<sup>1</sup>, 田中 準一<sup>1</sup>, 大沼慎太郎<sup>1</sup>, 安原 理佳<sup>1</sup>, 大庭 伸介<sup>2</sup>, 美島 健二<sup>1</sup>

<sup>1</sup>昭大 歯 口腔病理, <sup>2</sup>阪大 院歯 口腔解剖一

---

【背景】 Sox9 と Foxc1 はマウス唾液腺発生初期に唾液腺原基特異的に高い発現を示し、かつ、マウス ES 細胞由来口腔粘膜に過剰発現させることで唾液腺オルガノイドを誘導可能であることから、当該因子が唾液腺の発生において重要な転写因子であると考えられている。しかしながら、これらの転写因子がどのようなメカニズムを介して唾液腺の発生を制御しているかは十分解析されていない。本演題は Foxc1 ChIP-seq を用いて、Foxc1 の発現制御遺伝子や作動様式を明らかにすることを目的とした。【方法】 胎生 16 日マウス顎下腺組織に対し Foxc1 ChIP-seq を行い、Foxc1 の結合部位や推定標的遺伝子を網羅的に解析した。【結果】 Foxc1 ChIP-seq にて 60906 個のピークが検出され、14950 種の推定標的遺伝子の中には唾液腺発生への関与が報告されている複数の遺伝子が含まれていた。Gene ontology 解析により、Foxc1 結合領域群は唾液腺の形態形成に関わる遺伝子群において高い関連を示した。モチーフ解析では、モチーフ前半は Foxc1 のコンセンサス結合モチーフへの結合が確認される一方、モチーフ後半はデポジットデータによりばらつきがあり、臓器や時期によって Foxc1 が異なるタンパクと複合体を形成し標的遺伝子発現を制御している可能性が示された。【考察】 Foxc1 が唾液腺発生に関与する複数の遺伝子発現を制御している可能性が示された。また、その際には Foxc1 は他のタンパクと複合体を形成している可能性が推測された。今後唾液腺発生における Foxc1 の発現制御遺伝子および作動様式についてさらに詳細な解析を進める予定である。(共同研究者:北條宏徳)

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## A comprehensive analysis of ChIP-seq-based Foxc1 target genes in mouse embryonic submandibular gland

---

○Yukimori A<sup>1</sup>, Tanaka J<sup>1</sup>, Ohnuma S<sup>1</sup>, Yasuhara R<sup>1</sup>, Ohba S<sup>2</sup>, Mishima K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Pathol, Dept Oral Diag Sci, Showa Univ, Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Oral Anat Deve Biol, Osaka Univ, Grad Sch Dent

---

Sox9 and Foxc1 are considered to play important roles in the early salivary gland development. But it remains unclear that what genes Foxc1 regulate, how Foxc1 regulate the gene expression in the salivary gland development. Here we analyzed Foxc1 target genes in E16 submandibular glands comprehensively using ChIP-seq. For Foxc1 ChIP-seq, 60906 peaks (14950 putative target genes) met the peak calling criterion. The multiple genes reported to have a relationship to the salivary gland development previously were included in these putative genes. In Gene Ontology analysis, Foxc1 peaks were associated with genes related to salivary gland morphology within Mouse Phenotype. In Motif analysis, only one enriched motif was detected in top 1000 peaks. The Foxc1 common motif was shown in the forward region of the motif, and various motifs were shown in the afterward region of the motif. We will continue to try to identify Foxc1 target gene, and the protein that forms transcriptional complex with Foxc1 related to the salivary gland development.

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

---

## 2-PM38 Wnt 経路は YAP1-TGF- $\beta$ 経路を介して歯胚の発生を促進する

○長野 良子<sup>1,2</sup>, 藤井 慎介<sup>1,3</sup>, 清島 保<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔病理, <sup>2</sup>九大 院歯 保存, <sup>3</sup>九大 院歯 DDR 研究セ

遺伝子改変マウスにおける歯原性上皮特異的な Wnt/ $\beta$ -catenin 経路の活性化により, 歯胚形成不全および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, 歯胚器官培養法を用いて CHIR99021 (GSK-3 阻害剤: 以下 CHIR) 刺激により Wnt/ $\beta$ -catenin 経路を活性化させたところ, 遺伝子発現を介した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, その形態異常は細胞増殖の亢進だけでは回復せず, 他の分子基盤を介して歯胚の形態形成を制御すると考えられたが, その詳細は不明である。本研究では, Wnt/ $\beta$ -catenin 経路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 CHIR 刺激により発現変動した遺伝子群の Microarray データを基に Pathway 解析を行ったところ, YAP1 経路および TGF- $\beta$  経路が抑制されていた。両経路は歯の形態形成に関わることが報告されているが, Wnt/ $\beta$ -catenin 経路との関係は不明であるため, これらのシグナル経路の歯胚形態形成における機能解析を行うこととした。歯原性上皮細胞において CHIR 刺激したところ, 上記解析結果と同様に, YAP1 経路および TGF- $\beta$  経路の下流遺伝子の発現が抑制された。さらに,  $\beta$ -catenin の活性化による転写共役因子 YAP1 の発現減少に依存して, 複数の TGF- $\beta$  経路の下流遺伝子が抑制されることを見出した。これらの結果から, 歯原性上皮細胞における Wnt/ $\beta$ -catenin 経路の活性化は, YAP1 の発現抑制を介して YAP1 経路および TGF- $\beta$  経路を抑制することが示唆された。また, 胎生 15 日齢マウスより摘出した帽状期歯胚の器官培養においても, CHIR 刺激により両経路は抑制された。さらに CHIR 刺激依存的な歯胚の形態異常は TGF- $\beta$  刺激により回復した。これらの結果から, 歯原性上皮において Wnt/ $\beta$ -catenin 経路は YAP1 の発現制御に依存した TGF- $\beta$  経路の活性化を介して, 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 signaling promotes tooth germ development through YAP1-TGF- $\beta$ signaling

○Nagano R<sup>1,2</sup>, Fujii S<sup>1,3</sup>, Kiyoshima T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent Sect, <sup>2</sup>Sect Periodontol, Kyushu Univ Grad Sch Dent Sect, <sup>3</sup>DDR Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent Sect

Tooth germ development involves continuous and sequential steps with reciprocal interactions between odontogenic epithelium and the adjacent mesenchyme. Several growth factors, including Wnt, are essential for its development. Molecular mechanisms underlying Wnt/ $\beta$ -catenin-regulated tooth germ development are poorly understood. We recently demonstrated that Wnt/ $\beta$ -catenin signaling inhibited odontogenic epithelial cell proliferation through a reduction in Semaphorin 3A (Sema3A) expression. In tooth germ rudiments culture, Sema3A stimulation reversed Wnt/ $\beta$ -catenin signaling-dependent decreased cell proliferation but did not completely rescue the morphological anomalies of tooth germ, suggesting that the uncharacterized signaling pathway may be essential in Wnt/ $\beta$ -catenin signaling-dependent tooth germ development. Herein, an enrichment analysis using DNA microarray data revealed that Wnt/ $\beta$ -catenin signaling negatively regulates YAP1 and/or TGF- $\beta$  signaling. In odontogenic epithelial cells and tooth germ rudiments, Wnt/ $\beta$ -catenin signaling reduced YAP1 expression, thereby suppressing YAP1 and TGF- $\beta$  signaling sequentially. Finally, Wnt/ $\beta$ -catenin signaling-dependent disorganized tooth germ development, in which YAP1 signaling was suppressed, was reversed by TGF- $\beta$  stimulation, possibly as a result of regulating a specific epithelial cell fate, such as stellate reticulum or outer enamel epithelium. These results suggest that Wnt/ $\beta$ -catenin signaling contributes to the tooth germ development through YAP1-TGF- $\beta$  signaling.

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



---

## 2-PM39 内因性 AhR リガンド FICZ による Cyp1a1 を介した破骨細胞分化および骨代謝調節機構の解析

---

○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 AhR (aryl hydrocarbon receptor) 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、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。そこで今回、必須アミノ酸であるトリプトファンの代謝物で AhR リガンドの一つとして知られる FICZ (6-formylindolo[3, 2-b]carbazole) の破骨細胞分化や炎症性骨代謝疾患に対する治療効果を解析することを目的とした。【方法】12 週齢 C57BL/6 マウスを無作為に 4 群 (各群 n=7) に分け、実験群 3 群 (Vehicle 群, FICZ low 群; 100 µg/kg, FICZ high 群; 100 mg/kg,) に対し、1 日 3 時間の強制開口を 5 日間連続して行い、顎関節に過剰な負荷を加えた。FICZ 投与群には強制開口終了後、1 週間に 2 度 FICZ を尾静脈から投与した。【結果および考察】内因性 AhR リガンドの一つ 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、下顎頭表面の粗造感や過剰な破骨細胞集積、TUNEL 陽性細胞の FICZ 用量依存的な減少が認められた。変形性顎関節症モデルマウス下顎頭では AhR の標的遺伝子 Cyp1a1 の発現上昇がみられたものの、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および Cyp1a1 の発現の減少を認めた。【結論】以上のことから、AhR リガンド FICZ 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 endogenous ligand FICZ regulates bone homeostasis by regulating osteoclast differentiation via the AhR/Cyp1a1 signaling axis

---

○Yoshikawa Y, Izawa T, Kamioka H

Dept Orthodont Grad Sch Med, Dent and Pharma Sci Okayama Univ

Bone loss due to smoking represents a major risk factor for fractures and bone osteoporosis. Signaling through the aryl hydrocarbon receptor (AhR) and its ligands contributes to both bone homeostasis and inflammatory diseases. It remains unclear whether the AhR signaling axis affects the temporomandibular joint (TMJ). Possible functions of an endogenous AhR ligand of 6-formylindolo [3, 2-b] carbazole (FICZ), were investigated in a TMJ-osteoarthritis (OA) mouse model. WT mice were subjected to forced mouth opening-induced TMJ-OA and received a tail vein injection of FICZ twice a week. Two different concentrations of FICZ were administered (Vehicle group, FICZ low group; 100 µg/kg, FICZ high group; 100 mg/kg). FICZ was dissolved in dimethyl sulphoxide (DMSO) (0.5 mg/ml) for these injections. Experimental TMJ-OA was established according to a forced mouth opening method. In a mouse model of TMJ-OA, FICZ exhibited a dose-dependent rescue of mandibular subchondral bone loss by repressing osteoclast activity. Meanwhile, in vitro, pre-treatment with FICZ reduced RANKL-mediated osteoclastogenesis. The AhR ligand, FICZ, can prevent TMJ-OA by regulating osteoclast differentiation.

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

---

## 2-PM40 母親の *Porphyromonas gingivalis* 菌性感染が仔の脳組織に与える影響

○石田 えり<sup>1</sup>, 古庄 寿子<sup>2</sup>, 芝 典江<sup>2</sup>, 津賀 一弘<sup>1</sup>, 宮内 睦美<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 広大院医 補綴, <sup>2</sup> 広大院医 口腔顎顔面病理病態

近年、妊婦の歯周炎が早産のリスクを高めることが広く知られている。早産の主な原因の1つである子宮内感染/炎症に暴露された胎児は在胎日数に関係なく脳神経障害をもつ危険性が高いとされる。これまでに、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*) 菌性感染妊娠マウスモデルを用い、*P.g.* 感染胎盤で炎症細胞の増加と早産関連物質の産生上昇が起こり、早産を発症することが明らかにされている。その際、感染胎盤では *P.g.* 免疫局在が母体側の血管やトロフォブラストばかりでなく、胎児側の血管にも観察され、*P.g.* が胎盤を介して胎児に移行する可能性が示唆された。さらに *P.g.* がアルツハイマー病患者の脳内で検出され、*P.g.* が認知機能に悪影響を及ぼす可能性も示唆されている。そこで本研究では、このマウスモデルを用い、母体の *P.g.* 菌性感染が仔の行動や脳組織に与える影響について明らかにすることを目的とした。

C57BL/6J 雌マウスを *P.g.* 菌原性感染の有無で2群に分けた。*P.g.* 感染から6週後より交配を開始した。*P.g.* 感染および非感染母マウスから生まれた仔マウスをそれぞれ *P.g.* 群および Cont 群とし、生後45日目に認知機能および脳組織の評価を行った。

ステップスルー型受動的回避試験において、*P.g.* 群は Cont 群に比較して保持試行の潜時時間が有意に短くなった。免疫組織化学染色より *P.g.* が脳組織全体、特に海馬領域にびまん性に観察された。*P.g.* 群の海馬では、錐体細胞および CREB 陽性細胞数が減少し、アストロサイトの活性化および IL-6 mRNA の発現上昇が観察された。また、*P.g.* 群の扁桃体では、錐体細胞および CREB 陽性細胞数の減少、ミクログリアの活性化が観察された。

以上の結果から、*P.g.* 菌性感染した母マウスから生まれた仔マウスは認知機能の低下を認め、*P.g.* が母体側から子供の脳に侵入することで、海馬や扁桃体の神経変性、また扁桃体ではそれに加えて神経炎症が引き起こ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。

### Impact of maternal odontogenic infection of *Porphyromonas gingivalis* on brain of mouse offspring

○Ishida E<sup>1</sup>, Furusho H<sup>2</sup>, Shiba F<sup>2</sup>, Tsuga K<sup>1</sup>, Miyauchi M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Adv Prosthodont, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci, <sup>2</sup>Dept Oral Maxillofac Pathobiol, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci

*Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*), a major periodontal pathogen, can cause intrauterine infection and inflammation. Fetuses exposed to intrauterine infection and inflammation are known to develop neurological disorders, regardless of the gestational period. However, the correlation between maternal periodontitis and functional or histological changes in the child's brain is not clear. The objective of this study is to investigate the effects of maternal *P.g.* odontogenic infection on behavior and brain tissue of offspring.

C57BL/6J female mice were divided into 2 groups with or without *P.g.* odontogenic infection and named *P.g.* and Cont group, respectively. After 6 weeks from *P.g.* infection, mating was started. Offspring born from *P.g.* group and Cont group were evaluated on 45 days after birth.

Offspring in *P.g.*-group had reduced cognitive function. *P.g.* diffusely distributed in whole brain tissue of *P.g.* group, especially in hippocampus area. In the hippocampus of *P.g.* group, reduction of pyramidal cells and CREB + cells, increase of GFAP + positive reactive astrocytes associated with IL-6 mRNA upregulation were observed. Whereas in amygdala of *P.g.* group, decreasing pyramidal cells and CREB + cells, and increase of activated Iba1 + microglia were observed.

It is suggested that *P.g.*, translocated from mother side, induced impairment of cognitive function through neurodegeneration and neuroinflammation.

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

---

## 2-PM41 組織修復性 M2 マクロファージの全身的細胞移植がマウス BRONJ 様病変の組織治癒に与える影響の検索

---

○小堤 涼平, 黒嶋伸一郎, 佐々木宗輝

長大 院医歯薬 インプラント

---

【目的】薬剤関連顎骨壊死 (MRONJ) は口腔顎顔面領域に発症する病因不明の難治性硬組織疾患である。当講座では, MRONJ 様病変モデル動物を複数開発し, 多面的な解析から MRONJ の病態形成機構にマクロファージ (MΦ) が関与している可能性を見出してきた。本研究の目的は, 当講座が作製したビスホスホネート製剤関連顎骨壊死 (BRONJ) を用い, 組織修復性 M2 MΦ の全身移植がマウス BRONJ 様病変に与える影響を検索することにある。【方法】8 週齢雌性 C57BL/6J マウスを用いた。抗がん剤 (シクロフォスファミド:CY) と BP 製剤 (ゾレドロネート:ZA) の併用投与に抜歯を組み合わせ, 高頻度発現型 BRONJ 様病変モデルマウス (CY/ZA) を作製した。次いで, マウス長管骨から骨髓細胞を採取し M-CSF, IL-4, IL-10 を作用させ M2 MΦ を樹立し, 抜歯直後に外形静脈から M2 MΦ を移植した (Test, n=7)。対照群は生理食塩水投与とした (Ctrl, n=7)。細胞移植 2 週間後にマウスを屠殺して上顎, 長管骨, 血清, 脾臓を採取し, 各種解析を行った。【結果と考察】Test 群では Ctrl 群と比較してほぼ全てで創部閉鎖を認め, 空の骨小腔数減少に伴う壊死骨の減少と生きている骨の有意な増大, ならびに有意なコラーゲン産生増加と多形核白血球浸潤抑制が認められ, 病変部硬軟組織治癒が促進されていた。また, Test 群では BRONJ 様病変の結合組織内における F4/80<sup>+</sup> MΦ 数が有意に増加し, その極性を炎症性 M1 MΦ から M2 MΦ へ変化させるとともに, CD31<sup>+</sup>血管内皮細胞と LIVE-1<sup>+</sup>リンパ管内皮細胞数も有意に増加していた。以上から, M2 MΦ の全身移植による M2 MΦ への極性変化が組織治癒に必要な血管とリンパ管新生と関連し, 病変部硬軟組織の治癒を促進した可能性が強く考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Effects of systemic transplantation of M2 macrophages on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw-like lesions in mice

---

○Kozutsumi R, Kuroshima S, Sasaki M

Dept Appl Prosthodont, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

---

Purpose: Medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ) is one of intractable disease. Aim of this study was to investigate the transplantation effects of systemic M2 macrophages on BRONJ-like lesions. Materials & Method: A murine model of BRONJ-like lesions were created by combined administration of cyclophosphamide (CY) and zoledronate (ZA) with tooth extraction. M2 macrophages, which were induced by bone marrow cells treated with several cytokines, were transplanted into CY/ZA-treated mice via the external jugular vein just after tooth extraction (Test). Saline was used as a control (Ctrl). All mice were euthanized 2 weeks after cell transplantation. Maxillae, long bone, spleen and sera were collected and quantitatively analyzed. Results & Conclusion: Test group significantly ameliorated BRONJ-like lesions by promoting osseous and soft tissue healing with decreased necrotic bone, increased living bone, increased collagen production and suppressed infiltration of polymorphonuclear cells. Test group significantly shifted macrophages from M1 to M2 with increased total number of macrophages. Moreover, test group significantly increased the number of CD31 + blood and LIVE-1 + lymphatic vessels. Our findings strongly suggest that polarization shifting of macrophages to M2 induced by cell transplantation could accelerate blood and lymphatic vessel formation, which results in promoted healing of BRONJ-like lesions.

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

---

---

## 2-PM42 唾液腺発生と腺様嚢胞癌腫瘍形成における軸索誘導因子 Semaphorin 3A (Sema3A) の役割の解明

---

○藤本 龍史<sup>1,2</sup>, 藤井 慎介<sup>2,3</sup>, 清島 保<sup>2</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔顎顔面外科, <sup>2</sup>九大 院歯 口腔病理, <sup>3</sup>九大 院歯 DDR 研究セ

---

最近, 私共の研究室において, 歯原性上皮細胞において Wnt/ $\beta$ -catenin シグナルが Semaphorin 3A (Sema3A) の発現抑制を介して細胞増殖を負に制御することにより歯胚の発生を制御することを明らかにした. 歯胚と唾液腺は, その発生過程において共通の分子メカニズムを有していると考えられる. しかし, 唾液腺発生における Semaphorin 3A の役割は不明である. 腺様嚢胞癌 (ACC) は, 唾液腺を発生母地とする悪性腫瘍である. また, 上皮形態形成と腫瘍形成の間にも共通の分子メカニズムが存在すると考えられる. しかし, 腺様嚢胞癌 (ACC) における Semaphorin 3A の役割も不明である. 本研究では, 顎下腺発生における Semaphorin 3A の関与と腺様嚢胞癌 (ACC) 病理組織切片における Semaphorin 3A の発現を検討した. 阻害剤を用いた顎下腺器官培養において, Semaphorin 3A は AKT 活性化を介した細胞増殖, cleft, bud の形成に必要であることを見出した. また, Wnt/ $\beta$ -catenin シグナルは顎下腺における Semaphorin 3A の発現を抑制することが明らかとなった. 腺様嚢胞癌 (ACC) 病理組織切片を免疫組織化学的に解析したところ, Semaphorin 3A は非腫瘍領域ではほとんど発現しなかった. 一方で, 腫瘍実質, 特に筋上皮性腫瘍細胞で高発現し, Semaphorin 3A 発現部位では AKT のリン酸化が高頻度に検出された. これらの結果から, 唾液腺と腺様嚢胞癌 (ACC) の増殖機構において Sema3A/AKT シグナルが共通する分子基盤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.

---

## Investigation of the role of Semaphorin 3A (Sema3A), an axonal guidance factor, in salivary gland development and adenoid cystic carcinoma tumorigenesis

---

○Fujimoto T<sup>1,2</sup>, Fujii S<sup>2,3</sup>, Kiyoshima T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sect Oral Maxillofac Surg, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>DDR Res Cent, 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. The developmental process may share the same mechanisms in tooth germ and salivary gland. However, the role of Sema3A in salivary glands development is unknown. Adenoid cystic carcinoma (ACC) is a malignant tumor arising from salivary glands. There may be common mechanisms between epithelial morphogenesis and tumorigenesis. However, the role of Sema3A in ACC is also unclear. The current study was to investigate the involvement of Sema3A in submandibular gland (SMG) development and its expression in ACC specimens. Loss-of-function experiments using an inhibitor revealed that Sema3A was required for AKT activation-mediated cellular growth and formation of cleft and bud in SMG rudiment culture. In addition, Wnt/ $\beta$ -catenin signaling decreased the Sema3A expression in SMG rudiment culture. Immunohistochemical analyses of tissue specimens obtained from ACC patients showed that Sema3A was hardly observed in non-tumor regions but was strongly expressed in tumor lesions, especially in myoepithelial neoplastic cells, at high frequencies where phosphorylated AKT expression was frequently detected. These results suggest that the Sema3A/AKT-mediated cellular growth axis could be common in salivary gland development and ACC tumorigenesis.

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

---



---

## 2-PM43 SARS-CoV-2 感染マウスを用いた肺血管内皮細胞の重症化関連遺伝子の解析

---

○武田 遼<sup>1,2</sup>, 間石 奈湖<sup>1</sup>, 樋田 京子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北大 院歯 口腔病態 血管生物分子病理, <sup>2</sup>北大 院歯 口腔病態 口腔診断内科

---

COVID-19 の重症例, 死亡例では血栓症や重度の血管炎が観察され, 血管内皮のウイルス応答が重症化の鍵となる可能性が考えられる. しかし, COVID-19 重症例における肺血管内皮の詳細な病態については不明な点が多い. 本研究では, COVID-19 重症化病態と肺血管内皮との関連を解明することを目的とした. 加齢/若齢マウスに SARS-CoV-2 マウス馴化株を経鼻接種し, 死亡直前に肺を採取し, 病理組織学的解析を行った. さらに, それぞれのマウス肺から高純度の血管内皮細胞を単離し, 抽出した RNA を用いて PCR 法によりウイルス量を定量解析した. また, それらを RNA シークエンスに供し, このデータを用いてパスウェイ解析ソフトウェア (IPA) による解析を行った. SARS-CoV-2 感染加齢群は若齢群よりも著しい体重減少を認め, 全例死亡に至った. 感染加齢群を COVID-19 重症化群, 感染若齢群を COVID-19 非重症化群とした. 非重症化群よりも重症化群で肺組織中にウイルスタンパクや血栓が多く認められた. 一方, 非重症化群において CD45 陽性細胞が多く認められた. 重症化群の肺血管内皮では非重症化群より SARS-CoV-2 ウイルス RNA レベルが高く, 重症個体の肺血管内皮へのウイルス感染が示唆された. RNA-seq で血管内皮細胞へのウイルス感染が示唆されたが, 既報どおり血管内皮細胞には ACE2 の発現は認められず, 血管への新たな感染機構が示唆された. さらに重症化群の血管内皮細胞において複数の血栓形成関連分子が発現亢進しており, 病理組織像と矛盾しない結果となった. 重症化群の肺血管内皮で発現亢進していた血栓関連因子 X については ELISA により感染後期で重症化群でのみ血中のレベルが上昇してくることから, 重症化との関連が示唆された. (本研究は北大人獣共通感染症国際共同研究所 澤洋文教授との共同研究である)

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

### Analysis of genes of endothelial cells related to COVID-19 aggravation using a mouse infection model

---

○Takeda R<sup>1,2</sup>, Maishi N<sup>1</sup>, Hida K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Vas Biol & Mol Pathol Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Oral Diagn Med Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

---

Thrombosis and vasculitis were observed in severe cases of COVID-19, suggesting that the viral response of the vascular endothelium may be a key factor in aggravation of COVID-19. However, the detailed pathogenesis of pulmonary vascular endothelium in severe cases of COVID-19 remains unclear. In this study, we aimed to elucidate the relationship between the pulmonary vascular endothelium and the pathogenesis of severe COVID-19. We inoculated aged/young mice intranasally with mouse-adapted SARS-CoV-2 and harvested lungs before death for histopathological analysis. High purity vascular endothelial cells were isolated from the lungs of each mouse and subjected to qRT-PCR and RNA-seq. The SARS-CoV-2-infected aged group showed weight loss, and all of them died. Pathological analysis suggested that thrombogenesis and the immune system were involved in the severity of the disease. The SARS-CoV-2 RNA was higher in the pulmonary vascular endothelium of the severe COVID-19 model than non-severe model, suggesting that viral infection of the pulmonary vascular endothelium was related to severe COVID-19. Furthermore, thrombogenesis-related molecules were up-regulated only in the severe COVID-19 model, which was consistent with the histopathology. ELISA showed that blood levels of thrombus-related factor X, which was upregulated in severe COVID-19 model, suggesting that it was associated with severe disease.

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

---

## 2-PM44 抜歯窩と大腿骨骨欠損部の治癒過程から探る骨格部位依存的な幹細胞の多様性

○伊藤慎一郎<sup>1</sup>, 笠原 典夫<sup>2</sup>, 北村 啓<sup>2</sup>, 松永 智<sup>3</sup>, 溝口 利英<sup>4</sup>, 笠原 正貴<sup>1</sup>, 山口 朗<sup>4</sup>

<sup>1</sup>東歯大 薬理, <sup>2</sup>東歯大 組織・発生, <sup>3</sup>東歯大 解剖, <sup>4</sup>東歯大 口腔科学研究セ

【目的】抜歯窩と長管骨再生の治癒過程については様々な報告があるが、これらの治癒過程における間葉系幹細胞の特性については未だ不明なままである。本研究の目的は、抜歯窩と大腿骨骨折及び大腿骨骨幹部円形骨欠損の治癒過程を病理組織学的に比較検討し、骨再生過程における骨格部位依存的な幹細胞の多様性を検証することである。【方法】8週齢の雄マウスを使用した。上顎第一臼歯を小ピンセットで抜歯した。大腿骨では骨幹部をスチールバーで切断し、30G注射針を髓内釘として挿入した骨幹部骨折と骨幹部に直径0.8mmのピンバイスで作製した円形骨欠損を解析した。これらの骨損傷後の治癒過程を、Micro-CT、組織染色、免疫組織化学染色、RT-PCRによって解析した。【結果】Micro-CT解析では抜歯窩、大腿骨骨折部、大腿骨円形骨欠損部の不透過像が経時的に増加していた。組織学的には、抜歯窩は膜内骨化により修復され、軟骨細胞は見られなかった。大腿骨骨折及び大腿骨円形骨欠損部では欠損周囲の骨膜部に軟骨性仮骨が見られ、欠損部は軟骨内骨化で再生した。抜歯窩では、Sp7, Col1a1, Runx2の発現が上昇したが、Sox9, Acan, Col10a1の発現上昇は見られなかった。一方、大腿骨骨折部及び大腿骨円形骨欠損部ではこれらの骨及び軟骨関連遺伝子の発現が上昇していた。【考察と結論】骨再生過程における骨化様式は骨欠損部の力学的安定性や十分な血液供給に加え、骨再生部での幹細胞の分化能に依存していると考えられる。抜歯窩と大腿骨円形骨欠損では周囲を骨で囲まれ類似した力学的安定性を有し、十分な血管供給を伴うため、両者の治癒過程における骨化様式の差異は、骨再生過程に出現する幹細胞の分化能に依存した可能性が大きい。そのため、本研究の結果は、骨再生過程では骨格部位依存的な幹細胞分化能の多様性が存在することを示唆した。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

### Skeleton-dependent stem cell diversity explored from the healing process of extraction sockets and femoral bone defects

○Ito S<sup>1</sup>, Kasahara N<sup>2</sup>, Kitamura K<sup>2</sup>, Matsunaga S<sup>3</sup>, Mizoguchi T<sup>4</sup>, Kasahara M<sup>1</sup>, Yamaguchi A<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup>Dept Histol and Devel Biol, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup>Dept Anat, Tokyo Dent Coll, <sup>4</sup>Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll

Despite various reports on the bone healing processes of tooth extraction socket and long bone fracture, the differences of pathological changes during these healing processes remain elusive. This study aims to elucidate the underlying mechanisms bone regeneration between the tooth extraction socket and femoral fracture through a comparative study. Eight-week-old male mice were used in the experiments. The left maxillary molar was extracted. We applied two models of bone injury in the femurs: intramedullary nailing model and drill hole model. Pathological changes in these bone injuries were investigated by micro-CT, histology, immunohistochemistry, and RT-PCR. Micro-CT analyses showed increases in mineralized tissues in each injury models. Histological examinations revealed that tooth socket was repaired by intramembranous ossification lacking chondrocytes. Femoral fracture and drill hole models were healed through endochondral ossification. Immunohistochemical and RT-PCR analyses revealed apparent expression of markers related to bone and cartilage in both of femur injury models, whereas only bone related markers were apparent in tooth extraction socket. The present study suggested that skeleton-dependent stem cell diversity between tooth socket extraction and femoral bone injury.

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

---

## 2-PM45 シスチントランスポーター xCT に対する阻害剤は FOXA1 低発現口腔扁平上皮癌に対して抗腫瘍効果を示す

---

○岡崎 章悟, 今井 健一

日大 歯 感染免疫

悪性腫瘍は細胞内代謝の変化や炎症環境、抗癌剤や放射線治療により、高濃度の活性酸素種に晒されており、腫瘍細胞は高酸化ストレス条件下で生存するために高い酸化ストレス耐性を有している。また、酸化ストレス耐性は治療抵抗性や遠隔転移にも寄与することから、酸化ストレス抵抗性機序は特に高悪性度の腫瘍に対する新規治療標的として期待されている。口腔扁平上皮癌においては、重要な酸化ストレス耐性分子の一つであるシスチントランスポーター xCT に対する阻害剤、スルファサラジンが、未分化腫瘍細胞特異的に抗腫瘍効果を示すことが明らかとなっており、高悪性度の癌細胞に有効である可能性が示されている。しかし、xCT 阻害剤に対する感受性と腫瘍の悪性度との機能的な関連性はよく分かっていない。最近、我々はスルファサラジン耐性口腔扁平上皮癌細胞株 OSC19-SSZR を樹立した。本研究では、xCT 阻害剤感受性と腫瘍の悪性度の関連性を解析するため、OSC19SSZR 細胞とその親株、OSC19 細胞の造腫瘍性の検討を行った。その結果、OSC19-SSZR 細胞においては顕著な造腫瘍性の低下が認められた。また、OSC19-SSZR 細胞においては転写因子、Forkhead box protein A1 (FOXA1) の発現上昇が認められ、xCT 阻害剤耐性に寄与していることが明らかとなった。次に、xCT 阻害剤耐性機序と造腫瘍性の関連性を検討するため、FOXA1 による腫瘍の進展への影響を検討したところ、FOXA1 のノックダウンは腫瘍成長を促進したが、xCT 阻害剤に対しては感受性の亢進が認められた。さらに、口腔扁平上皮癌患者においては腫瘍組織において FOXA1 の発現低下が認められ、また、その発現低下は予後不良と相関していることが分かった。以上の結果より、FOXA1 発現は口腔扁平上皮癌の進展に対して抑制的に機能することが明らかとなり、FOXA1 低発現の高悪性度口腔扁平上皮癌においては xCT が有望な治療標的となることが示された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Inhibitors against cystine transporter xCT exhibit antitumor effects on FOXA1-low-expressing oral squamous cell carcinomas

---

○Okazaki S, Imai K

Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent

Malignant tumors are exposed to high concentrations of reactive oxygen species, and tumor cells are highly oxidative stress resistant to survive under high oxidative stress conditions. Since oxidative stress resistance also contributes to therapy resistance and distant metastasis, oxidative stress resistance mechanism is expected to be a novel therapeutic target. In oral squamous cell carcinoma (OSCC), sulfasalazine, an inhibitor of cystine transporter xCT, exhibits antitumor effects on undifferentiated tumor cells and may be effective against high-grade cancer cells. However, the functional relationship between xCT inhibitor (xCTi) sensitivity and tumor malignancy is not well understood. Recently, we established a sulfasalazine-resistant OSCC cell line, OSC19-SSZR. In this study, we examined the tumorigenic potential of OSC19SSZR cells. The results showed decreased tumorigenicity in OSC19-SSZR cells. In addition, FOXA1 expression was upregulated in OSC19-SSZR cells, and its expression contributes to xCTi resistance. Next, we examined the association between FOXA1 and tumorigenicity, and found that knockdown of FOXA1 promoted tumor growth but increased sensitivity to xCTi. Furthermore, OSCC patients showed decreased expression of FOXA1, and the decreased expression correlated with poor prognosis. These results indicate that FOXA1 inhibits the progression of OSCC and xCT is a promising therapeutic target for OSCC with low FOXA1 expression.

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

---

---

## 2-PM46 ヒト多能性幹細胞由来神経堤細胞を用いた歯根膜再生の基盤研究

---

○高橋 侑嗣<sup>1,2</sup>, 安原 理佳<sup>1</sup>, 田中 準一<sup>1</sup>, 槇 宏太郎<sup>2</sup>, 美島 健二<sup>1</sup>

<sup>1</sup>昭大 歯 口腔病理, <sup>2</sup>昭大 歯 矯正

---

**【目的】** 神経堤由来の細胞は全身に広く分布しており、神経系や口腔組織の発生に関与している。また、歯根膜も神経堤細胞由来であることが報告されている。そこで本研究では、ヒト多能性幹細胞由来神経堤細胞から歯根膜細胞を分化誘導するための転写因子を探索することを目的とした。**【方法】** 矯正治療に伴う便宜抜去歯の利用について、十分な説明のもと文書での同意が得られた患者（男性2名、女性1名）を対象とし、歯根膜初代培養を行った。抜去歯をPBSで洗浄後、培養液に浸漬しながらメスにて歯根膜組織を剥離した。細胞培養用ディッシュ上に播種し、その上からカバーガラスを被せ、CO<sub>2</sub> インキュベーターにて48時間静置した。2日に1回培地交換を行い、一定数増殖したところでカバーガラスを取り除き、80% confluentの状態になったところで継代した。RNeasy Plus Kitsを用いてRNAを抽出し、RNA-seqにより網羅的遺伝子発現を解析した。また、公共データベースより取得した、ヒトES細胞由来神経堤細胞の遺伝子発現情報と比較した。**【結果と考察】** 歯根膜初代培養細胞と神経堤細胞それぞれの遺伝子発現プロファイルと比較し、歯根膜初代培養細胞に発現の高い転写因子を抽出した。抽出された転写因子の中には骨芽細胞分化に関与する遺伝子や、口蓋形成に重要な役割を果たす遺伝子などが認められた。今回はデータベース上に公開されているヒトES細胞由来神経堤細胞のプロファイルを取得し利用したが、現在ヒトiPS細胞由来神経堤細胞の誘導に着手しており、今後はこれらの転写因子を応用することにより、ヒトiPS細胞由来神経堤細胞からヒト歯根膜細胞の分化誘導を行う予定である。**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Basic research for regeneration of periodontal ligament using human pluripotent stem cell-derived neural crest cells

---

○Takahashi Y<sup>1,2</sup>, Yasuhara R<sup>1</sup>, Tanaka J<sup>1</sup>, Maki K<sup>2</sup>, Mishima K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Pathol, Showa Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Orthodont, Showa Univ Sch Dent

---

[Objective] Neural crest cells are involved in the development of the nervous system and oral tissues. It has been reported that the periodontal ligament is derived from neural crest cells. In this study, we searched for transcription factors that can induce differentiation of periodontal ligament cells from neural crest cells derived from human pluripotent stem cells. [Methods] Periodontal ligament was collected from patients whose premolars were extracted for orthodontic treatment. The periodontal ligament was detached with a scalpel, seeded on a dish, covered with a cover glass, and placed in a CO<sub>2</sub> incubator for 48 hours. Primary culture cells were passaged when they reached 80% confluency. Gene expression was analyzed by RNA-seq and compared with a public database of gene expression in human ES cell-derived neural crest cells. [Results and Discussion] Transcription factors that showed higher gene expression in periodontal ligament cells than in neural crest cells contained osteoblast differentiation- and palatal formation-related genes. As a next step, gene expression of human iPS cell-derived neural crest cells will be compared with that of primary cultured human periodontal ligament cells. This information is expected to be useful for generating periodontal ligament cells from human iPS cells.

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

---



---

## 2-PM47 国産耐熱性養殖サンゴ外骨格を骨補填材として実験的一壁性骨欠損に用いた効果

---

○池田 隼人<sup>1,2,3</sup>, 岡村 友玄<sup>3</sup>, 西川 哲也<sup>4</sup>, 富永 和也<sup>3</sup>, 井関 富雄<sup>2</sup>

<sup>1</sup>大歯大 院歯 口外(1), <sup>2</sup>大歯大 口外, <sup>3</sup>大歯大 口病, <sup>4</sup>大歯大 歯科医学教育開発セ

---

【目的】顎骨再生の要素として細胞・足場・成長因子が知られている。咀嚼、咬合などの口腔機能は顎骨に対して物理的影響を与える。そのため、歯槽骨の再生では足場の強度が求められ、足場材料には生体適合性や吸収性も求められる。生体吸収性の観点からは、多孔性であることも求められる。強度を持ちながら多孔性で生体吸収性が高い足場材料は顎骨再生にとって理想的である。そこで、我々はこの条件を満たし、欧米で臨床応用されているサンゴ外骨格に注目した。【材料と方法】顆粒に走査型電子顕微鏡（SEM）で表面構造を、培養ヒト歯根膜線維芽細胞に顆粒を添加し MTT 法で細胞増殖能の影響を観察した。イヌを用いて臨床応用実験を行った。両側下顎第二前臼歯の近遠心および両側下顎第四前臼歯の近心の 3 か所に高さ 5 mm、幅 3 mm の一壁性骨欠損を人工的に形成した。左側（実験側）に顆粒、吸収性メンブレンを填入し吸収性糸で創部を閉鎖創とした。8 週後、安楽死させ下顎骨を摘出し 10%ホルマリン溶液に浸漬固定した。その後、マイクロ CT で構造解析を行い、脱灰標本を作製し病理組織を得た。【結果】SEM 像では顆粒の微細構造が多孔性であることを確認した。In vitro では顆粒の添加により細胞増殖能の亢進を認めた。In vivo では人工的に作成した骨欠損の修復を認めなかった対照群に比べ、実験群では歯槽骨の再生を放射線画像診断学および病理組織学的に認めた。【結論】骨補填材として応用された顆粒は、一壁性骨欠損の歯槽骨再生に有用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。

---

## Effect of thermostable cultured coral exoskeleton applied as bone replacement material on experimental one-walled infrabony defects

---

○Ikeda H<sup>1,2,3</sup>, Okamura T<sup>3</sup>, Nishikawa T<sup>4</sup>, Tominaga K<sup>3</sup>, Iseki T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Maxillofac Surg (1), Osaka Dent Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Div Oral Maxillofac Surg (1), Osaka Dent Univ, <sup>3</sup>Div Oral Pathol, Osaka Dent Univ, <sup>4</sup>Div Adv Clin Educ, Osaka Dent Univ

---

[Purpose] The strength of scaffolds is required for alveolar bone regeneration, and biocompatibility and absorbability are also required for scaffold materials. From the viewpoint of bioabsorbability, the scaffold material must be porous. Scaffolds that are strong, porous and highly bioabsorbable are ideal for jawbone regeneration. We focused on coral exoskeleton, which meets these requirements and has been clinically applied in Europe and USA. [Materials and Methods] The surface structure of the particle was examined by scanning electron microscopy (SEM), and the effect of the particle on the proliferative ability of cultured cells was observed by the MTT method. Clinical application experiments were conducted in dogs. An experimental single-walled bone defect was created within the jawbone. It was specimen after 8 weeks, micro CT, and histopathology specimens were prepared and morphologically observed. [Results and Discussion] The microstructure of coral particles was confirmed to be porous using SEM images. In vitro, cell proliferation was enhanced by the addition of particle. In vivo, alveolar bone regeneration was observed radiographically and histopathologically in the experimental group. [Conclusion] The particle applied as a bone replacement material may be useful for alveolar bone regeneration in unifacial bone defects.

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

---

## 2-PM48 髄床底穿孔部におけるケイ酸カルシウムセメント (Biodentine) の歯根膜組織の骨形成能に関する *in vitro*, *in vivo* 的探索

○江澤 奈穂<sup>1,2</sup>, 明石 良彦<sup>2</sup>, 中島 啓<sup>2</sup>, 國分 克寿<sup>2</sup>, 松坂 賢一<sup>2</sup>, 古澤 成博<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 院歯 歯内, <sup>2</sup>東歯大 院歯 病理

【目的】根管治療において、根管側壁等に穿孔した場合、予後不良に陥ることが多い。その際の穿孔部封鎖材としてケイ酸カルシウムセメントが応用されるが、中でも Biodentine は操作性や生体親和性に優れていることから近年注目されている。さらに、本セメントは Mineral Trioxide Aggregate (MTA) に比較して、硬化時間が短く機械的特性も良好なことが示されている。本研究の目的は、ケイ酸カルシウムセメントの歯根膜部の細胞動態、特に硬組織形成能を *in vitro* ならびに *in vivo* で探索することである。

【方法】*in vitro* 実験として、培養プレート内に硬化させた Biodentine および MTA の disk を浸漬し、ヒト歯根膜由来線維芽細胞 (HPLF) を播種し培養を行った。なお細胞播種のみをコントロールとした。その後、細胞形態観察、qRT-PCR (RUNX2, OCN, RANKL, OPG)、アリザリンレッド染色にて評価を行った。一方、*in vivo* 実験として生後 10 週齢のラットを用い、上顎第一臼歯の髄床底部を穿孔した。その後、Biodentine および MTA にて封鎖し、光硬化型ガラスイオノマーセメントを充填した。実験後、28 日目に安楽死させ、HE 染色および抗 Runx2 抗体を用いた免疫組織化学的染色を行った。

【結果】*in vitro* 実験結果として HPLF は、位相差顕微鏡および SEM 観察によって disk 上および周辺で観察された。また、アリザリンレッド染色では、Biodentine 群で広範な染色と石灰化を示した。さらに、qRT-PCR の結果は、6 日目の OCN mRNA においても高い値を示し有意差を認めた。一方 *in vivo* 実験では、HE 染色は全ての群で穿孔部直下に好中球による炎症性細胞浸潤を示し、コントロール群のみ穿孔部と歯根膜領域との間に上皮層が観察された。抗 Runx2 抗体を用いた免疫組織化学的染色では、Biodentine 群の穿孔部直下において陽性細胞が認められた。以上の結果から Biodentine は、歯根膜細胞の骨芽細胞への分化を促進する働きが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。

## Mineralization ability of calcium silicate cement (Biodentine) on periodontal ligament tissue in perforated floor of pulp chamber

○Ezawa N<sup>1,2</sup>, Akashi Y<sup>2</sup>, Nakajima K<sup>2</sup>, Kokubun K<sup>2</sup>, Matsuzaka K<sup>2</sup>, Furusawa M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Endo, TDC Grad Sch, <sup>2</sup>Dept Patho, TDC Grad Sch

In root canal treatment, perforation of the lateral wall of the canal often results in poor prognosis. Biodentine has been attracting attention in recent years because of its superior operability and biocompatibility. The purpose of this study was to explore the mineralization ability of calcium silicate-based cement in the periodontal ligament *in vitro* and *in vivo*.

HPLF were seeded and cultured in culture plates with Biodentine and MTA disks. Cell morphology, qRT-PCR and alizarin red staining were then used for evaluation. 10-week-old rats were used, and floor of the pulp chamber was perforated towards alveolar bone. After perforation, the tooth was sealed with Biodentine and MTA and filled with glass ionomer cement. On day 28 after the experiment, the teeth were stained with HE and anti-Runx2 antibody.

HPLF was observed on and around the disks. Alizarin red staining showed extensive staining in the Biodentine group. Immunohistochemical staining of anti-Runx2 antibody showed positive cells in the alveolar bone just below the perforation in the Biodentine group. These results suggest that Biodentine may promote the differentiation of periodontal ligament cells into osteoblasts.

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

## 2-PM49 シングルセル RNA-seq とマルチプレックス Spatial 解析を基盤としたシェーグレン症候群の標的臓器微小環境変化の解明

○大塚 邦紘<sup>1,2,3</sup>, 近藤 博之<sup>2</sup>, 九十九伸一<sup>2,3</sup>, 新垣理恵子<sup>1</sup>, 佐藤 真美<sup>1</sup>, 常松 貴明<sup>1</sup>, 石丸 直澄<sup>1</sup>, 安友 康二<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>徳大 院医歯薬 口腔分子病態, <sup>2</sup>徳大 院医歯薬 生体防御医学, <sup>3</sup>徳大 pLED 医光融合

シェーグレン症候群 (Sjögren's syndrome: SS) は唾液腺や涙腺を主な標的とする自己免疫疾患である。病理組織学的に、唾液腺や涙腺の導管周囲の密なリンパ球浸潤が特徴であり、その多くは CD4<sup>+</sup> T cell であることが知られているものの、発症機序は明らかではない。一方で、B cell や CD8<sup>+</sup> T cell, マクロファージなどの免疫細胞の関与も報告され、発症機序は非常に多様である。我々は、SS の唾液腺における多様な免疫応答について、SS 疾患モデルマウスを用いた single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) にて明らかにした。舌下腺粘液腺分化に変異のある雌 NFS/*sld* の胸腺を生後 3 日目に摘出することで SS 疾患モデルを作成し、その唾液腺から単離した CD45<sup>+</sup> 免疫細胞を用いた。その結果、SS モデルに特徴的に出現する CD4<sup>+</sup> CD153<sup>+</sup> PD-1<sup>+</sup> T cell を見出した。CD4<sup>+</sup> CD153<sup>+</sup> T cell は唾液腺だけでなく、リンパ組織中でも増加していた。SS 疾患モデルマウスに抗 CD153 中和抗体を投与したところ、病態の改善が示された。加えて、CD153 の受容体である CD30 が SS 疾患モデルマウス唾液腺の浸潤巣内に局在し、SS 患者においては臨床病理学的スコア (Greenspan 分類) が高いほど CD30<sup>+</sup> cell が多い傾向にあることが示された。CD4<sup>+</sup> CD153<sup>+</sup> T cell および CD30<sup>+</sup> cell の局在を調べるために、SS 患者標本について、最大 40 種類を同一標本上で染色できる PhenoCycler (旧名: CODEX) を用いて、マルチプレックス Spatial 解析を行った。その結果、上皮細胞・T 細胞・B 細胞・マクロファージなど複数の細胞種の局在を同一空間上で観察することができ、さらに CD30<sup>+</sup> cell が CD4<sup>+</sup> T cell と近接して存在する傾向にあることが示された。以上から、CD4<sup>+</sup> CD153<sup>+</sup> T cell と CD30<sup>+</sup> cell の相互反応を介した SS 病態の増悪の可能性を示唆した。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### Single-cell RNA-seq and multiplex spatial analysis reveal the microenvironment in the target organ of Sjögren's syndrome

○Otsuka K<sup>1,2,3</sup>, Kondo H<sup>2</sup>, Tsukumo S<sup>2,3</sup>, Arakaki R<sup>1</sup>, Sato M<sup>1</sup>, Tsunematsu T<sup>1</sup>, Ishimaru N<sup>1</sup>, Yasutomo K<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, <sup>2</sup>Dept Immunol Parasitol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, <sup>3</sup>Dept Int Res for Med Photo, Inst pLED, Tokushima Univ

Sjögren's syndrome (SS) is an autoimmune disorder that affects exocrine glands, such as salivary glands (Sg). The histopathological changes of SS are characterized by T cell infiltration around salivary ducts although it remains unclear which T cells are pathogenic to damage tissues. Thus, in order to identify pathogenic T cells for SS, we performed single-cell RNA sequencing by using CD45<sup>+</sup> cells in Sg or draining lymph nodes of neonatal thymectomized NFS/*sld* mice (SS model). We detected increased number of CD4<sup>+</sup> CD153<sup>+</sup> PD-1<sup>+</sup> T cells in Sg of SS model mice. We intraperitoneally injected anti-CD153 neutralization antibody to SS model mice in order to examine the roles of CD153 in SS model. The pathological score were improved by anti-CD153 antibody treatment, suggesting pathogenic roles of CD153 in this SS model. In summary, our study suggests that CD4<sup>+</sup> CD153<sup>+</sup> PD-1<sup>+</sup> T cells contribute to autoimmune pathology in Sg of SS model.

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

---

**2-PM50** (取り下げ)

---

---

(**withdrawn**)

---



## 2-PM51 低出力LED光照射がラット骨髄由来骨芽細胞様細胞に与える効果の基礎的研究

○服部 剛大<sup>1</sup>, 伊藤由有希<sup>1</sup>, 鈴木 季功<sup>1</sup>, 磯村まどか<sup>1,2</sup>, 河合 遼子<sup>1,3</sup>, 吉田 和加<sup>1,3</sup>, 杉田 好彦<sup>1,3</sup>, 久保 勝俊<sup>1,3</sup>, 前田 初彦<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>愛院大 歯 口腔病理・法歯, <sup>2</sup>藤田医大 医 病理診断, <sup>3</sup>愛院大 院歯 未来口腔医療研究セ

【目的】近年, Low level laser therapy (LLLT)は骨折や抜歯創などの創傷治癒や歯科用インプラントの骨結合を促進させることが報告され, 注目されている. そこで本研究では波長 455 nm のLED光照射が, ラットの大腿骨骨髄由来の骨芽細胞様細胞の細胞増殖能・分化能・石灰化能に与える効果について検討を行った.

【方法】ラットの大腿骨から骨髄細胞を採取し, 骨芽細胞分化誘導培地を用いて継代培養を行った後, 実験に用いた. 照射条件は波長 455 nm, 照射出力 510 mW (照射野実測値 100 mW), 照射距離 20.9 mm, 14 秒の光照射を 1.5 時間おきに 4.5 時間までの計 4 回行い, 総ジュール数 5.6 J/cm<sup>2</sup> とした. 実験群は Control 群, LED 光照射群, LED 光照射・FGF 添加培養液群, FGF 添加培養液群の計 4 群 (n=3) とした. 細胞増殖能の検索には Cell Counting Kit-8 を用い, 1 回目の光照射直後, 1.5, 3.0, 4.5 時間後に ELISA 法で定量した. 分化能の検索にはラボアッセイ ALP を用い, 1 回目の光照射から 3, 7 日目に ALP 活性値を求めた. 石灰化能の検索には Alizarin Red 染色を行った. 1 回目の光照射から 14, 28 日目に染色を行い, 染色された面積率から陽性率を求めた.

【結果】細胞増殖能・分化能は, 検索した全ての結果で LED 光照射群が最も高かった. 石灰化能においては LED 光照射群よりも FGF 添加培養液群の方が僅かに高い傾向がみられた. また, 今回の条件下では LED 光照射・FGF 添加培養液群において, 併用による相乗効果は認められなかった.

【結論】本実験の条件下において, 培養骨芽細胞様細胞への LED 光の照射は, 培養液への FGF 添加よりも細胞増殖能, 分化能の促進効果がみられることが判明した.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

## Basic study of the effects of low level LED light irradiation on the osteoblast like cells of derived from rat bone marrow

○Hattori T<sup>1</sup>, Ito Y<sup>1</sup>, Suzumura T<sup>1</sup>, Isomura M<sup>1,2</sup>, Kawai R<sup>1,3</sup>, Yoshida W<sup>1,3</sup>, Sugita Y<sup>1,3</sup>, Kubo K<sup>1,3</sup>, Maeda H<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Pathol and Forensic Dent, Aichi Gakuin Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Fujita Health Univ Sch Med Diagnostic Pathol, <sup>3</sup>Res Inst Adv Oral Sci, Aichi Gakuin Univ

Recently, Low level laser therapy (LLLT) has been reported to promote wound healing of fractures and tooth extraction wounds and bone-dental implants osseointegration. In this study, we investigated the effects of 455 nm LED irradiation on cell proliferation, differentiation and calcification of osteoblast-like cells derived from rat femur bone marrow.

The irradiation conditions were as follows; LED with a wavelength of 455 nm, 510 mW power (measured value in the irradiated field: 100 mW), distance: 20.9 mm, and energy of 5.6 joules/cm<sup>2</sup> for 14-second irradiation every 1.5 hours for up to 4.5 hours. The experimental groups were divided into 4 groups; control group, LED light-irradiation group, FGF-containing media group and LED light-irradiation and FGF-containing media group (n = 3).

In all the searched results, the cell proliferation ability and differentiation ability were highest in the LED light irradiation group. The calcification ability tended to be slightly higher in the FGF-containing media group than in the LED light irradiation group. In addition, combined use of LED light-irradiation and FGF-containing media group found no synergy.

In conclusion, LED light irradiation of cultured osteoblast-like cells was found to promote cell proliferation and differentiation compared to the addition of FGF to the culture medium.

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

---

## 2-PM52 口腔扁平上皮癌におけるエピジェネティクス薬剤の腫瘍抑制効果の検討

---

○高橋 周平, 吉田 光希, 安彦 善裕

北医療大 歯 臨床口腔病理

【目的】近年, DNA メチル基転移酵素阻害剤 (DNMTi) やヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (HDACi) などのエピジェネティクス薬剤が血液腫瘍に臨床応用されているが, 口腔扁平上皮癌 (OSCC) を含む固形腫瘍にどのように影響するかは不明である. 本研究では, OSCC に対するエピジェネティクス薬剤の効果について検討した. 【方法】In vitro で, OSCC 細胞株 (CA9-22, HSC3, HSC4, SAS) を以下の条件で 1 週間培養した; DDW 添加 (control), 5-Azacytidine (5Aza, DNMTi) 単独添加, Zebularine (Zeb, DNMTi) 単独添加, バルプロ酸 (Vpa, HDACi) 単独添加, 5Aza と Vpa の共添加, Zeb と Vpa の共添加. In vivo では, OSCC ( $5 \times 10^6$  細胞) を 6-8 週齢のヌードマウス (BALB/C nu/nu, Sankyo Labo) に注射することによって腫瘍を形成した. 腫瘍形成後, 上記の薬剤条件のうち control および DNMTi 単独添加について, 週に 2 回, 1ヶ月間腹腔内投与を行なった. 腫瘍摘出後, Total RNA と DNA の抽出を行い, qRT-PCR 法による mRNA 発現解析および定量的メチル化特異的 PCR (qMSP) 法による DNA メチル化解析を行った. 【結果】In vitro では, Zeb と Vpa の共添加群における p16 および p21 mRNA 発現レベルは, control 群と比較して有意に上昇した (Mann-Whitney U 検定,  $p < 0.05$ ). Zeb と Vpa の共添加群における p53 および p16 の DNA メチル化レベルは, control 群と比較して有意に低下した (カイ二乗検定,  $p < 0.05$ ). In vivo では, DNMTi 単独添加マウスの腫瘍サイズは, control マウスと比較して有意に低下した (Mann-Whitney U 検定,  $p < 0.05$ ). DNMTi 単独添加マウスの p16 mRNA 発現レベルは, control マウスと比較して有意に上昇した (Mann-Whitney U 検定,  $p < 0.05$ ). DNMTi 単独添加マウスの p16 DNA メチル化率は, control マウスと比較して有意に低下した (カイ二乗検定,  $p < 0.05$ ). 【結論】DNMTi は OSCC に対し腫瘍抑制効果を有する可能性が示唆された.

【利益相反】利益相反状態にはありません.

---

### Tumor inhibitory effect of epigenetic agents on oral squamous cell carcinoma

---

○Takahashi S, Yoshida K, Abiko Y

Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent Div Oral Med Pathol

[Purpose] Epigenetic agents including DNA methyltransferase inhibitors (DNMTi) and Histone deacetylase inhibitors (HDACi) have been clinically applied to blood tumors. In this study, we examined the effect of epigenetic agents on Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC). [Methods] OSCC cells were cultured and treated under following conditions: DDW (control); DNMTis, 5-Azacytidine (5Aza) and Zebularine (Zeb) alone; HDACi, Valproic acid (Vpa) alone; 5Aza + Vpa; Zeb + Vpa. The tumor formation was induced by injecting OSCCs into nude mice. DNMTis were intraperitoneally administered twice weekly for 1 month. The mRNA expression and DNA methylation of tumor suppressor genes including p53, p16, and p21 were confirmed by qRT-PCR and qMSP, respectively.  $p < 0.05$  was considered statistically significant. [Results] In vitro, the mRNA expression levels of p16 and p21 were significantly higher while DNA methylation levels of p53 and p16 were significantly lower in OSCC treated with Zeb + Vpa than in control. In vivo, the size of the tumor treated with DNMTi alone was significantly smaller than in control. The mRNA expression level of p16 was significantly higher while the DNA methylation percentage was significantly lower in the mice treated with DNMTi alone than in control. [Conclusion] The DNMTi may have tumor-inhibitory effects on OSCC.

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

---

---

## 2-PM53 ヒト皮膚ケラチノサイトへのUVB照射によるビーポーレンの有効性

---

○フレルチュルーン アリウンツェツェグ<sup>1,2</sup>, 高橋 周平<sup>1</sup>, 吉田 光希<sup>1</sup>, 安彦 善裕<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北医療大 歯 臨床口腔病理, <sup>2</sup>北医療大 歯 顎顔面口外

---

### Beneficial effect of bee pollen on a human skin keratinocyte cell exposed to UVB radiation

---

○Khurelchuluun A<sup>1,2</sup>, Takahashi S<sup>1</sup>, Yoshida K<sup>1</sup>, Abiko Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Med Pathol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>2</sup>Div Oral Maxillofac Surg, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

---

PurposeBee pollen is known to have many beneficial effects tonhealth including anti-inflammatory, antibacterial, antifungal, and antioxidant activities. Long exposure to ultraviolet-B (UVB) radiation in the sunlight accumulates reactive oxygen species (ROS) thereby generating oxidative stress to skin. This oxidative stress may cause skin cell damage including early aging and cancer. The beneficial effect of bee pollen may be able to alleviate the harmful effect of UVB to skin. However, studies are limited. The purpose of this study is to investigate the effectiveness of bee pollen in mitigating the effect of UVB exposure to human keratinocytas in vitro. Materials & MethodsThe human keratinocyte cell, PHK16-0b was cultured in Prime-CnT epithelial medium. Cells were divided into 4 groups; i) untreated cells (Control group), ii) cells exposed to UVB radiation (UVB group), iii) cells treated with bee pollen extract (BP group) and iv) cells exposed to UVB and treated with bee pollen extract (UVB + BP group). The optimum doses of UVB radiation and BP treatment were assessed by the cell viability assay. Senescence-associated beta-galactosidase (SA-beta-gal) staining was performed to evaluate the cell aging. Quantitative Real-Time RT-PCR was performed to examine the alteration in the mRNA expression of age-related genes (p16 and SIRT1). The level of intracellular ROS was measured by dihydroethidium (DHE) staining. Oxidative DNA damage was assessed by determination of 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) level with an ELISA kit. Results & ConclusionBased on cell viability assay, UVB dose of 20 mJ/cm<sup>2</sup> and bee pollen concentration of 4 mg/ml were determined to be the optimal doses. SA-beta-gal staining was significantly higher in the UVB group as compared to control. The mRNA level of age-related genes (p16, SIRT1) expression was significantly upregulated in UVB group as compared to control. However, after bee pollen treatment in UVB + BP group, the mRNA expression of those genes was significantly downregulated as compared to UVB group. On immunocytochemistry, DHE staining in the nucleus was significantly higher in UVB group as compared to other groups. However, DHE staining after bee pollen treatment was significantly decreased in UVB + BP group as compared to UVB group. DNA damage 8-OHdG level was significantly higher in UVB group compared with other groups. In conclusion, our results suggest that bee pollen may be beneficial to mitigate the harmful effects induced by UVB radiation in the human keratinocytes.

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

---

---

## 2-PM54 口腔癌における cholinetransporter like protein 1 (CTL1) の局在および細胞増殖との関連

---

○橋本 菜央<sup>1</sup>, 中島 啓<sup>2</sup>, 明石 良彦<sup>2</sup>, 國分 克寿<sup>2</sup>, 菅原 圭亮<sup>1</sup>, 片倉 朗<sup>1</sup>,  
松坂 賢一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東歯大 口腔病態外, <sup>2</sup>東歯大 病理

---

コリンは細胞膜の合成に関与し、細胞内への取り込みはコリントランスポーターを介することが知られている。近年、コリントランスポーターと細胞増殖の関連性が注目され、特に cholinetransporter-like protein (CTL1) は様々な癌研究分野で注目されている。しかし、口腔癌領域におけるコリントランスポーターの局在とその役割に関する研究はあまりされていない。本研究の目的は、口腔癌における CTL1 の発現および細胞増殖との関連性を明らかにすることである。

in vivo として、雄性 SD 系ラットを用いて 4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO, 富士和光) の水溶液を飲料水として 28 週間経口投与し、肉眼的に腫瘍を認めた時点で舌を摘出した。摘出物はパラフィン切片を作製し、抗 CTL1 抗体を用いた免疫組織化学的染色を行ない、局在を評価した。また、ヒトの舌癌組織で凍結切片を作製し、抗 CTL1 抗体を用いた蛍光免疫染色を行い、局在を評価した。in vitro として、ヒト舌癌患者由来の細胞株である HSC-3 を用いて、抗 CTL1 抗体、抗 Ki67 抗体および WGA を用いた蛍光多重染色を行ない、局在を評価した。結果は、in vivo において、control 群では上皮層細胞の細胞質で CTL1 の弱陽性を認めた。4NQO 群では CTL1 は癌巣内でびまん性に陽性を認めた。ヒトの舌癌組織内では CTL1 は細胞質で強陽性を認めた。また、in vitro において、CTL1 は細胞内で強い発現を認めた。Ki67 陰性細胞では CTL1 の発現は細胞質内にびまん性に散在しているものを認めた。Ki67 陽性細胞では CTL1 の発現は核周辺に集積しているものを多数認め、両者の違いに有意差を認めた。

CTL1 が細胞膜やミトコンドリア、トランスゴルジネットワーク上に局在するという報告がある。本研究では、舌癌細胞において CTL1 は細胞内で強く発現し、増殖期にある細胞は小胞体から CTL1 の産生が増加することで細胞膜の合成が増加し、細胞増殖に関連することが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Localization of choline transporter like protein 1 (CTL1) as cell proliferation in oral cancer

---

○Hashimoto N<sup>1</sup>, Nakajima K<sup>2</sup>, Akashi Y<sup>2</sup>, Kokubun K<sup>2</sup>, Sugahara K<sup>1</sup>, Katakura A<sup>1</sup>,  
Matsuzaka K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Pathobiological Sci Surg, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup>Dept Pathol, Tokyo Dent Coll

---

A choline plays an important role cell membrane synthesis through choline transporter. The purpose of this study was to demonstrate the relationship between CTL1 expression and cell proliferation in oral cancer. In vivo study, we used human tongue cancer samples and model rat samples of oral cancer induced by oral administration of 4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO) solution. Rat specimens were performed immunohistochemical staining with Anti-CTL1 antibody. Human specimens were performed immunofluorescent staining with Anti-CTL1 antibody. In vitro study, human tongue cancer cell, HSC-3, was performed immunofluorescence staining with Anti-CTL1, Ki67 antibody and wheat germ agglutinin (WGA) and was observed by a Confocal laser scanning microscopy.

CTL1 was more positive in cancer tissue than in healthy tissue, in vivo study. And, in vitro study, CTL1 expressed intracellularly, and accumulated around the nucleus in Ki67-positive HSC-3 compared to Ki67-negative HSC-3. These results were suggested that cells in the proliferative phase have increased synthesis of CTL1 from the endoplasmic reticulum, which promotes through cell proliferation cell membrane production.

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

---



---

## 2-PM55 GM2/GD2 合成酵素遺伝子欠損マウスでは骨形成が低下する

---

○佐々木恵理<sup>1,2</sup>, 三島 好貴<sup>1</sup>, 佐藤 琢麻<sup>2</sup>, 宮澤 健<sup>2</sup>, 後藤 滋巳<sup>2</sup>, 浜村 和紀<sup>1</sup>

<sup>1</sup>愛院大 歯 薬理, <sup>2</sup>愛院大 歯 矯正

【目的】糖脂質の中でもガングリオシドは、細胞増殖、分化、接着などに関与することが報告されている。しかし、ガングリオシドが骨代謝に及ぼす影響についてはほとんど明らかにされていない。ガングリオシドの一つである GD1a がヒト間葉系幹細胞から骨芽細胞への分化を促進することが報告されている。そこで、本研究では、GD1a が欠損している GM2/GD2 合成酵素遺伝子欠損マウスでは、骨形成が低下しているのかどうかを明らかにすることとした。【試料および方法】12 週齢の GM2/GD2 合成酵素遺伝子欠損マウスと野生型マウスを用いて、 $\mu$ CT による骨量および組織学的解析による骨形成・骨吸収の比較検討をした。骨形成の比較検討では、HE 染色による骨芽細胞を計数し、骨吸収の比較検討では、TRAP 染色による破骨細胞を計数した。また、14 週齢の GM2/GD2 合成酵素遺伝子欠損マウスと野生型マウスを用いて、カルセイン二重標識による骨形成率の比較検討をした。【結果】GM2/GD2 合成酵素遺伝子欠損マウスと野生型マウスの骨量には、有意な差は認められなかった。しかし、GM2/GD2 合成酵素遺伝子欠損マウスでは、骨芽細胞数が有意に減少し、骨形成率も有意に低下していた。さらに、GM2/GD2 合成酵素遺伝子欠損マウスでは、破骨細胞数の減少傾向が認められたが、有意な差はなかった。【結論】本研究により、GM2/GD2 合成酵素遺伝子欠損マウスでは、骨芽細胞に発現している GD1a 欠損により、骨形成が抑制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。

---

## Deletion of GM2/GD2 synthase in mice resulted in the attenuation of bone formation

---

○Sasaki E<sup>1,2</sup>, Mishima Y<sup>1</sup>, Sato T<sup>2</sup>, Miyazawa K<sup>2</sup>, Goto S<sup>2</sup>, Hamamura K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Pharmacol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Orthodont, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent

Purpose:Gangliosides have been known to be involved in cell proliferation, differentiation, and adhesion. However, little is known about the influence of gangliosides on bone metabolism. Ganglioside GD1a was reported to promote the differentiation of human mesenchymal stem cells into osteoblasts. Therefore, in this study, we investigated whether bone formation was reduced in GM2/GD2 synthase gene-deficient (GM2/GD2S KO) mice lacking GD1a. Materials & Methods:We compared bone mass by  $\mu$ CT analysis, and bone formation and bone resorption by histological analysis between GM2/GD2S KO mice and wild-type mice. For analysis of bone formation, osteoblasts stained by HE were counted, and for that of bone resorption, osteoclasts stained by TRAP were counted. Furthermore, calcein double labeling was conducted for evaluation of bone formation. Results:There was no significant difference in bone mass between GM2/GD2S KO mice and wild-type mice. Osteoblast number and bone formation rate in GM2/GD2S KO mice were significantly reduced. Furthermore, osteoclast number in GM2/GD2S KO mice was on a declined trend, but there was no significant difference. Conclusion:This study showed that bone formation was reduced in GM2/GD2S KO mice lacking GD1a.

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

---

---

## 2-PM56 2-methoxy-4-vinylphenol の RAW264.7 細胞における抗炎症活性には HO-1 による iNOS 転写抑制が関与する

---

○浅見 栄里<sup>1,3</sup>, 北見 恩美<sup>1</sup>, 井田 貴子<sup>2</sup>, 小林 正治<sup>3</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 歯科薬理, <sup>2</sup>新潟大 院医歯 口腔健康科学 う蝕, <sup>3</sup>新潟大 院医歯 顎顔面再建 組織再建口腔外科

---

2-methoxy-4-vinylphenol (2M4VP)は抗炎症活性を有することが報告されているが、その作用機序は未だに明らかになっていない。一方、抗炎症作用をもつ HO-1 が一酸化窒素(NO)の遺伝子発現を抑制し、HO-1 産生に関与する転写因子である NF-E2-related factor 2 (Nrf2) が核内に存在する ARE (antioxidant response element) に結合し、HO-1 の転写を促進することから、本研究では 2M4VP の NO 産生抑制作用は HO-1 を介するとの仮説のもと、2M4VP の抗炎症作用の遺伝子レベルでのメカニズムを検討した。本研究では、リポポリサッカロイド (LPS) 処置を行ったマクロファージ系細胞 RAW264.7 を用いて 2M4VP の抗炎症活性について Griess 法ならびに qPCR にて解析した。さらに ARE responsive luciferase reporter が組み込まれた HEK293 細胞を用いてルシフェラーゼアッセイを行った。その結果、2M4VP 投与により NO の産生が減少した。同時に 2M4VP 投与により誘導型 NO 合成酵素 (iNOS) の mRNA 発現が減少した。一方 2M4VP を投与することで HO-1 の転写が促進されたのに対し、Nrf2 転写因子阻害剤 (ML385) の処理後に 2M4VP 投与を行っても HO-1 の転写促進は認められなかった。また 2M4VP 投与により Nrf2 の ARE への結合が増加したのに対し、ML385 処理後の細胞では Nrf2 の ARE への結合増加は認められなかった。さらに、2M4VP の投与により HO-1 の mRNA 発現が増加すると LPS 誘導性 iNOS の発現が低下することが明らかになった。以上より、2M4VP の抗炎症活性は、転写因子 Nrf2 および ARE を介して HO-1 転写を促進し iNOS 転写の抑制することで発揮される可能性があることが示された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Anti-inflammatory activity of 2-methoxy-4-vinylphenol involves transcriptional inhibition of lipopolysaccharide-induced iNOS by HO-1

---

○Asami E<sup>1,3</sup>, Kitami M<sup>1</sup>, Ida T<sup>2</sup>, Kobayashi T<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent, <sup>2</sup>Dept Cariol, Oper Dent Endodont, Niigata Univ Grad Sch Med Dent, <sup>3</sup>Dept Reconstruct Surg for Oral Maxillofac Region, Niigata Univ Grad Sch Med Dent

---

2M4VP has anti-inflammatory properties, but the mechanism behind its activity remains unclear. On the other hand, HO-1, an enzyme with anti-inflammatory activity, inhibits NO inflammatory gene expression. HO-1 is promoted when the transcription factor Nrf2 binds to the ARE in the nucleus. Therefore, based on the hypothesis that the inhibitory effect of 2M4VP on NO production is mediated by HO-1, the possible mechanism of the anti-inflammatory activity of 2M4VP at the gene level was examined in this study. The anti-inflammatory activity was analyzed by Griess method and qPCR was performed using LPS-treated macrophage lineage RAW264.7 cells. Moreover, the impact of 2M4VP on Nrf2/ARE pathway was analyzed with the ARE luciferase reporter using HEK293 cells. The results showed that 2M4VP reduced the production of NO and downregulated LPS-induced iNOS mRNA expression. On the other hand, 2M4VP increased mRNA expression of HO-1, while pre-dose of Nrf2 inhibitor, ML385, downregulated the same. In addition, 2M4VP increased the luciferase activity, while pre-dose of ML385 had no significant change on its activity. Furthermore, 2M4VP downregulated LPS-induced iNOS mRNA expression while upregulating HO-1. These results suggest that 2M4VP, as an anti-inflammatory agent, inhibits iNOS transcription by enhanced HO-1 through activation of Nrf2/ARE pathway.

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

---

---

## 2-PM57 がん進展におけるイタコン酸の役割

---

○佐伯 彩華<sup>1</sup>, 林 慶和<sup>1,2</sup>, 自見英治郎<sup>1</sup>, 安河内 (川久保) 友世<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 OBT 研究セ, <sup>2</sup>福歯大 機能構造

---

イタコン酸 (Itaconic acid: IA) は, クエン酸回路において, cis-アコニット酸脱炭酸酵素 (Aconitate decarboxylase 1: ACOD1) を介して合成される副産物である. このクエン酸回路側副路 (IA 合成経路) の存在については以前より知られていたものの, ACOD1 や IA の生理的機能の詳細については不明のままであった.

近年, 炎症の病態下において, IA が免疫細胞によって産生されるということが報告された. そこで, 本研究では, 炎症との関連が深い“がん”の病態における IA の役割について, 解析を行った. まず, がんの増殖における IA の作用について, ACOD1 を発現していないマウスメラノーマ細胞株 (B16) およびヒトメラノーマ細胞株 (G361, COLO679), および正常ヒトメラノサイトを用いて, *in vitro* で解析を行った. 高濃度の IA を添加した際, 全てのメラノーマ細胞において増殖が抑制された. そこで, 細胞膜透過型 IA 類縁体である 4-オクチルイタコン酸 (4-Octyl itaconate : OI) の添加実験を行ったところ, 低濃度の OI 添加においても, 対照群に比べ, 細胞内代謝活性および増殖能が有意に抑制され, その増殖抑制効果は濃度依存的であった.

続いて, *in vivo* において, 担がんマウスに対する OI 投与実験を行った結果, OI 投与群では対照群に比べ, 著明な腫瘍体積ならびに腫瘍重量の減少が認められた.

これらの結果から, IA は, がん細胞内において, 強力な細胞増殖抑制作用を発揮することが示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

### The role of itaconate in cancer progression

---

○Saeki A<sup>1</sup>, Hayashi Y<sup>1,2</sup>, Jimi E<sup>1</sup>, Kawakubo-Yasukochi T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>2</sup>Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll

---

Itaconate (IA) is a by-products, which is synthesized in the TCA cycle via aconitate decarboxylase 1 (ACOD1). IA was first discovered in 1840, however, the physiological and pathological roles of ACOD1 and IA have not been elucidated in a long time. Recently, IA was reported to be produced by immune cells under inflammatory conditions, therefore, we analyzed the role of IA in cancer progression, which is closely associated to inflammation. In this study, we analyzed the effect of IA on cancer cell growth by *in vitro* and *in vivo* analysis, using melanoma cells, in which there is no IA, and normal melanocytes from mice and human. As a result, IA suppressed cell growth in melanoma cells at high concentrations. Furthermore, 4-Octyl itaconate (OI), with cell permeability, significantly suppressed cell proliferation in those cancer cells, even at a low concentration, and the effect was dose-dependent. Subsequent *in vivo* assay also revealed that OI challenge drastically decreased the tumor weight and the volume of tumor-bearing mice. These results suggest that intracellular IA is a potent cell growth inhibitor in cancer cells.

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

---

## 2-PM58 妊娠マウスへの骨吸収抑制薬投与は仔マウスの歯の成長障害をもたらす

○山口 真帆<sup>1,2,3</sup>, 坂井 信裕<sup>4</sup>, 唐川亜希子<sup>2,3</sup>, 茶谷 昌宏<sup>2,3</sup>, 畔津 佑季<sup>2,3</sup>, 高見 正道<sup>2,3</sup>  
<sup>1</sup>昭大 歯 小児成育歯, <sup>2</sup>昭大 歯 歯科薬理, <sup>3</sup>昭大 薬理科学研究セ, <sup>4</sup>昭大 歯 歯学教育

【目的】妊娠中の骨吸収抑制薬投与は解決すべき1つの問題となっているが、ビスホスホネートやデノスマブは原則投与禁忌であり、胎児への影響について詳細な報告はない。我々は妊娠後期マウスにゾレドロネートと抗マウス RANKL 抗体を投与し、新生仔マウスの全身および歯の成長について解析した。【方法】妊娠後期(胎生17日目)の雌性マウス(C57BL/6J)に生理食塩水(対照実験群)、ゾレドロネート(0.1, 1.0 mg/kg)、抗マウス RANKL 抗体(5 mg/kg)を単回皮下投与した。出産後の仔マウスはCT撮影(1回/週)し、6週齢まで観察した。安楽死後、大腿骨および頭蓋骨を摘出し microCT にて骨形態計測と顎骨切片にて組織染色および胸腺の免疫組織染色を実施した。また、生後7日齢マウス切歯からエナメル芽細胞を単離培養し、上記薬物添加による影響を検討した。【結果】抗 RANKL 抗体群の新生仔マウスは、6週齢までの生存率は2割程度で、生理食塩水群に比べ歯の萌出は遅延し、切歯と上顎臼歯近心咬頭にエナメル質形成不全を認めた。2週目までは大腿骨の骨量は有意に増加し、4週齢では低下していた。胸腺は有意に小さく胸腺髓質細胞の形態が不定形だった。一方、ゾレドロネート群の仔マウスは、3週齢にはすべて死亡したが、同じく萌出遅延とエナメル質の形成不全を認めた。またエナメル芽細胞培養では薬剤無添加群に比べ抗 RANKL 抗体群では細胞マーカーであるサイトケラチン14の発現レベルが高かった。エナメル芽細胞から RNA を抽出し qPCR を行なったところ、RANK の存在を確認した。【考察】出産3日前に骨吸収抑制薬を投与すると、新生仔マウスの全身の骨密度の変化と成長、さらに歯の萌出と歯冠形成期において、エナメル質の形成機序に何らかの影響を及ぼし、全身に影響を与えることも示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

## Bone resorption inhibitor administration to pregnant mice results in tooth disorder development in neonates

○Yamaguchi M<sup>1,2,3</sup>, Sakai N<sup>4</sup>, Karakawa A<sup>2,3</sup>, Chatani M<sup>2,3</sup>, Azetsu Y<sup>2,3</sup>, Takami M<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Showa Univ Dept Pediatr Dent Sch Dent, <sup>2</sup>Showa Univ Dept Pharmacol Dent Sch Dent, <sup>3</sup>Showa Univ Dept Pharmacol Res Cent, <sup>4</sup>Showa Univ Dept Dent Educ Sch Dent

Bone resorption inhibitor administration during pregnancy is important, as bisphosphonates and denosumab use is contraindicated. Furthermore, their effects on the fetus are largely unknown. Body and tooth growth in newborn mice were analyzed following zoledronic acid and anti-mouse RANKL antibody administration to their mothers during pregnancy. Saline, zoledronic acid, and an anti-mouse RANKL antibody were given to mice in late pregnancy (embryonic development 17 days), then the newborns underwent computed tomography (CT) examinations. Following euthanasia, bone was measured using microCT, while tissue staining and thymus immune staining were also performed. Additionally, ameloblasts isolated from incisors were examined to determine effects of the administrations. Approximately 20% of newborn mice with mothers that received the anti-RANKL antibody survived until six weeks, with tooth eruption delayed, and enamel hypoplasia in incisors and maxillary molar mesial cusps noted. The zoledronic acid group died earlier, though showed the same effects. Also, expression of the cell marker cytokeratin 14 was higher in the anti-RANKL antibody group than the zoledronic acid group. qPCR was also performed to confirm the presence of RANK. Administration of a bone resorption inhibitor in late pregnancy may have effects on enamel formation as well as throughout the whole body.

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



## 2-PM59 マウス唾液腺・涙腺におけるアルギナーゼ1の外分泌能調節メカニズムの解明

○大野 雄太<sup>1</sup>, 長瀬 春奈<sup>1</sup>, 佐藤慶太郎<sup>2</sup>, 設楽 彰子<sup>1</sup>, 中本 哲自<sup>3</sup>, 柏保 正典<sup>1</sup>

<sup>1</sup>朝日大 歯 薬理, <sup>2</sup>明海大 歯 薬理, <sup>3</sup>朝日大 歯 インプラント

【背景】シェーグレン症候群は、外分泌腺における慢性炎症を主徴とする難病である。分泌能の低下からドライアイやドライマウスといったドライ症状を呈し、QOLの低下を引き起こす。本疾患について炎症の観点からの研究は多数あるが、完治を見据えた治療法開発には至っていない。我々は炎症以外の観点から研究を進め、新規外分泌調節因子として代謝酵素アルギナーゼ1を同定した。しかしアルギナーゼ1が外分泌能を調節するメカニズムは不明なままであり、本研究はそのメカニズム解明を目的として、マウス唾液腺および涙腺を用いた詳細な検討を行った。【方法】BALB/cマウスの唾液腺・涙腺におけるアルギナーゼ1の発現量をqPCRおよびウェスタンブロットにより確認した。アルギナーゼ1阻害薬であるCB-1158 100 mg/kgを12時間ごとに3回経口投与し、アルギナーゼ1誘発外分泌低下モデルマウスを作成した。涙腺を摘出し、メタボローム解析を実施した。また、摘出した顎下腺に動脈にカニューレションしたex vivo灌流実験系において、カルバコール0.5 μMを灌流し、唾液分泌流速を測定した。【結果】唾液腺および涙腺においてアルギナーゼ1の発現を認めた。アルギナーゼ1阻害薬により唾液分泌量および涙液分泌量が共に減少した。アルギナーゼ1誘発外分泌低下モデルマウスの涙腺メタボローム解析により、アルギナーゼ1の代謝基質であるアルギニンの上昇が確認され、またいくつかのエネルギー代謝関連のアミノ酸の発現変化を認めた。同モデルマウスのex vivo灌流実験系において、カルバコール刺激直後の唾液分泌速度は対照群と比して変わらないのに対して、その後は低下した。【考察】アルギナーゼ1は外分泌腺においてエネルギー代謝を介して、傍細胞輸送をコントロールすることで外分泌能を調節する可能性が考えられた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

### The mechanism of exocrine regulated by arginase 1 in mouse salivary and lacrimal glands

○Ohno Y<sup>1</sup>, Nagase H<sup>1</sup>, Satoh K<sup>2</sup>, Shitara A<sup>1</sup>, Nakamoto T<sup>3</sup>, Kashimata M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Oral Implantol, Asahi Univ Sch Dent

Sjogren's syndrome induces salivary and lacrimal hyposecretion, which leads to reduced quality of life. Although many studies have been conducted from the perspective of inflammation, the development of a causal treatment has not been achieved yet. We thought it necessary to elucidate the mechanism of reduced exocrine from the perspective of non-inflammation, and identified arginase 1 as a novel non-inflammatory regulator of exocrine function. However, the mechanism of arginase 1 regulating the function remains unknown, so we aimed to elucidate the mechanism in this study. We first confirmed the expression of arginase 1 in both salivary and lacrimal glands from BALB/c mice by qPCR and western blot. Arginase 1 inhibitor, CB-1158, reduced the pilocarpine-induced saliva and tear secretion in vivo. The metabolome analysis of lacrimal glands revealed that the arginine, the substrate of arginase 1, upregulated and concentrations of some other amino acids related to energy metabolism were also altered. Furthermore, in an ex vivo perfusion system in which submandibular glands removed from the mice were cannulated with arteries, the saliva flow rate immediately after stimulation was unchanged compared to the control group but then decreased. These results indicated that arginase 1 might regulate paracellular fluid secretion via energy metabolism.

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

---

## 2-PM60 歯の移動に伴う疼痛に対する TRP チャンネル拮抗薬の併用歯肉塗布の効果

---

○湯川 未郷<sup>1</sup>, 佐藤慶太郎<sup>2</sup>, 須田 直人<sup>1</sup>, 安達 一典<sup>2</sup>

<sup>1</sup>明海大 歯 矯正, <sup>2</sup>明海大 歯 薬理

---

【目的】これまで我々は歯の移動に伴う疼痛を、電気刺激により誘発された開口反射の閾値 (TH) の変化で定量評価してきた。そして、transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) 拮抗薬の腹腔内投与は歯の移動に伴う疼痛を緩和することが示されている。しかし、TRPV1 拮抗薬全身投与は温覚異常を誘発する。本研究はこの副作用を軽減するために、TRPV1 と TRPA1 拮抗薬を併用歯肉塗布し、その効果を TH, 三叉神経節 (TG) 活性, 炎症性サイトカイン (IC) の変化で検討した。また、副作用の有無を局所・全身の温度上昇, 足底部・歯肉の温度感受性で評価した。【試料および方法】雄性 Wistar ラットの右側第一臼歯 (M1) に矯正力を負荷し、直後 (D0 群) または 1 日後 (D1 群) に右側 M1 歯頸部に薬物塗布し、翌日に TH, 直腸温, 歯肉溝温を評価した。温度感受性は、歯頸部歯肉もしくは足底に温度刺激 (CO<sub>2</sub>レーザー) を行い、回避反射誘発温度を測定し、同部位に薬物を塗布し、同様に回避温度を経時測定して確認した。その後ラットを灌流し、TG と M1 歯根膜を摘出した。TG は GFAP 発現評価, 歯根膜は CINC2 の定量評価に用いた (n=5)。【結果および考察】いずれの拮抗薬も用量依存的かつ、併用により協力的に TH を上昇させたが、直腸温と歯肉溝温に影響はなかった。TG 活性は右側の V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub> 領域で有意に上昇した。CINC2 は D0 群で増加を抑制した。両拮抗薬の塗布は、足底部で 30 分後から回避温度を有意に上昇させたが、歯肉塗布では温覚異常を誘発しなかった。【結論】TRP チャンネル拮抗薬の口腔内塗布は、温覚異常が生じることなく、IC 発現を抑制し、歯の移動に伴う疼痛を抑制することが示された。また、口腔粘膜の TRP チャンネル特性は、他の末梢部位 (足底部など) とは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。

---

## Synergistic effect of topical application of TRP channel antagonists on experimental tooth movement-induced pain

---

○Yugawa M<sup>1</sup>, Satoh K<sup>2</sup>, Suda N<sup>1</sup>, Adachi K<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Orthod, Meikai Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent

---

The threshold for inducing jaw-opening reflex (JOR-TH) is significantly reduced by application of orthodontic force to the tooth. 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, adverse side effects (e. g., hyperthermia) of the general administration of TRPV1 antagonists provide the necessity to investigate improved strategies. In this study, TRP antagonists were topically applied to the gingiva, and the orthodontic force-induced JOR excitation was investigated with other features (e. g., trigeminal excitation, inflammatory cytokine alteration, rectal and gingival temperatures, and temperature sensitivity of the plantar and gingiva). Topical application of TRP antagonists immediately (D0) or one day (D1) after orthodontic force application significantly increased JOR-TH the next day in dose-dependent and synergistic manner. On the other hand, there were no alterations in rectal and gingival temperature. In D0, the analgesic effect was associated with a significant reduction of CINC2 in the periodontium. In addition, chemical application-induced increase in temperature sensitivity was only observed in plantar. In summary, topical application of TRP antagonists cocktail may reduce orthodontic pain without adverse side effects. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

---

## 2-PM61 ビスホスホネート製剤の投与が、軽症低ホスファターゼ症の大腿骨に与える影響

○高橋 有希<sup>1</sup>, 平井 研吾<sup>2</sup>, 松永 智<sup>3</sup>, 笠原 典夫<sup>4</sup>, 阿部 伸一<sup>3</sup>, 新谷 誠康<sup>2</sup>, 笠原 正貴<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 薬理, <sup>2</sup>東歯大 小児歯, <sup>3</sup>東歯大 解剖, <sup>4</sup>東歯大 組織発生

### 【目的】

低ホスファターゼ症 (HPP) は、組織非特異的アルカリホスファターゼ遺伝子 (*TNALP*) の変異により、血中のアルカリホスファターゼ (ALP) 濃度が低下し、硬組織の石灰化不全、呼吸困難、痙攣発作、乳歯の早期脱落を主徴とする遺伝性疾患である。HPP の診断は、胎児エコーでの長管骨の低形成や彎曲、もしくは乳歯の早期脱落を認めて初めて HPP が疑われ、種々の検査を経て確定診断に至る。そのため、乳歯の脱落が生じてもおおしくない 4 歳以上の小児型 HPP や成人型 HPP は、HPP であるにも関わらず、HPP との診断がつかずに骨粗鬆症と診断されることがある。その結果、骨粗鬆症の治療薬として幅広く使用されているビスホスホネート (BP) 製剤の投薬が行われる可能性があり、HPP に BP 製剤の投薬を行った結果、非定型大腿骨骨折を生じた事例もある。そこで本研究では、軽症 HPP モデルマウスである *Akp2*<sup>+/-</sup> を対象に、BP 製剤投与が大腿骨に与える影響の解析を目的とした。

### 【方法】

4 週齢 (小児型 HPP を想定) の *Akp2*<sup>+/-</sup> マウスに、ゾレドロン酸 (Zol) を 1 mg/kg (vol: 200  $\mu$ L) 隔週、計 5 回の皮下投与を行った。その 1 週間後に大腿骨のサンプリングを行い、マイクロ CT 解析および組織学的解析として HE 染色を行った。コントロールとして、同日齢の *Akp2*<sup>+/+</sup> マウスを用いた。

### 【結果と考察】

今回の結果から、BP 製剤を投与してしまうと変性軟骨が異常増殖を起こし、その結果、大腿骨頭壊死などを起こすリスクが高くなる可能性があることがわかった。したがって、軽症 HPP 患者と通常の骨粗鬆症患者との鑑別診断が重要であり、HPP 患者に対し、BP 製剤の投与を避けるべきという日本小児内分泌学会の HPP 診療ガイドラインは概ね妥当であることがわかった。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

## Effect of administration of bisphosphonate preparation on femur with mild type hypophosphatase

○Takahashi A<sup>1</sup>, Hirai K<sup>2</sup>, Matsunaga S<sup>3</sup>, Kasahara N<sup>4</sup>, Abe S<sup>3</sup>, Shintani S<sup>2</sup>, Kasahara M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup>Dept Pediatr Dent, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup>Dept Anat, Tokyo Dent Coll, <sup>4</sup>Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll

Hypophosphatasia (HPP) is a systemic skeletal disease, caused by deficiency of tissue-nonspecific alkaline phosphatase (TNALP). HPP is diagnosed only when fetal-echo shows hypoplasia and curvature of the long tube bone, or early loss of deciduous teeth. Therefore, children over 4 years old and adult HPP, they may be diagnosed with osteoporosis without being diagnosed with HPP. As a result, bisphosphonate preparations (BP), which are widely used as therapeutic agents for osteoporosis, may be administered to mild HPP. In some cases, atypical femoral fractures occurred as a result of administration of BP to HPP. Therefore, the purpose of this study was to analyze the effect of BP administration on the femur in *Akp2*<sup>+/-</sup>, which is a mild HPP model mouse. Results of administration of BP to 4-week-old *Akp2*<sup>+/-</sup> mice, it was found that the degenerative cartilage may grow abnormally, and as a result, the risk of causing necrosis of the femoral head may increase. Therefore, it was found that the differential diagnosis between mild HPP patients and normal osteoporosis patients is important, and the HPP clinical guidelines of the Japan Pediatric Endocrinology Society that administration of BP preparations should be avoided for HPP patients are generally appropriate.

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

---

## 2-PM62 低分子量 G タンパク質 Cdc42 は耳下腺と涙腺で異なるメカニズムにより AQP5 発現量を制御する

---

○長瀬 春奈<sup>1</sup>, 大野 雄太<sup>1</sup>, 佐藤慶太郎<sup>2</sup>, 柏俣 正典<sup>1</sup>, 設楽 彰子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>朝日大 歯 薬理, <sup>2</sup>明海大 歯 薬理

---

【背景】唾液分泌不全は口腔機能を低下させる。我々は上皮細胞の極性形成に関わる低分子量 G タンパク質 *Cdc42* を外分泌腺特異的にノックアウト (KO) すると、唾液分泌量は減少する一方、涙液分泌量は増加することを報告した (第 62 回歯科基礎医学会)。ここで *Cdc42* は唾液腺と涙腺で異なる分子機能を有すると考えられた。本研究は *Cdc42* KO マウスの分泌に影響し得る因子を解析し、唾液腺と涙腺における外分泌機構の相違を評価した。

【結果】唾液腺と涙腺の *Cdc42* mRNA 量を解析し、KO 群の *Cdc42* 発現量が唾液腺と涙腺の両者で有意に減少することを確認した。中でも耳下腺と涙腺の KO 率が同等なことから、両腺の水チャネル AQP5 の mRNA およびタンパク質発現量を解析した。AQP5 mRNA 発現量は耳下腺および涙腺で *Cdc42* KO による有意な差は認められなかった。一方で、AQP5 タンパク質発現量は耳下腺で減少し、反対に涙腺で増加した。これは唾液分泌の減少と涙液分泌の増加という結果に一致した。AQP5 は腺房細胞のマーカータンパク質であることから、腺房細胞死の違いが AQP5 発現量に逆の影響を及ぼすと考え、臓器重量を測定し TUNEL 染色によりアポトーシス細胞を評価した。予測に反し、耳下腺と涙腺はいずれも臓器重量の減少および腺房の TUNEL (+) 細胞の増加を示した。このことから、細胞内の AQP5 量が唾液腺と涙腺で異なる可能性が示された。

【考察】耳下腺と涙腺では *Cdc42* によるタンパク質分解系や合成系の調節が異なるため、AQP5 発現量の変化に逆の結果をもたらし、それ故、分泌現象に反対の結果を示すと考えられた。この機序を解明することにより唾液分泌不全の治療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。

---

### Small GTPase Cdc42 regulates AQP5 expression through different mechanisms in parotid and lacrimal glands

---

○Nagase H<sup>1</sup>, Ohno Y<sup>1</sup>, Satoh K<sup>2</sup>, Kashimata M<sup>1</sup>, Shitara A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Asahi Univ Sch Dent, Dept Dent Pharmacol, <sup>2</sup>Meikai Univ Sch Dent, Div Pharmacol

---

We previously presented data that acinar cell-specific knockout (KO) of *Cdc42*, a small GTPase, decreased saliva secretion while increasing lacrimal secretion in transgenic mice. In this study, we analyzed potential factors that may affect the different secretion in exocrine glands of *Cdc42* KO. We first confirmed that *Cdc42* expression was significantly decreased in submandibular gland, sublingual gland, parotid gland (PG) and lacrimal gland (LG) from *Cdc42* KO mice. Then, we found that AQP5 mRNA expressions in PG and LG were not significantly different by *Cdc42* KO. However, AQP5 protein expression was decreased in the PG but increased in the LG, which is consistent with the result of saliva/tear secretion. Since AQP5 is a marker of the acinar cells, we evaluated organ weights and apoptotic cells by TUNEL staining. Unexpectedly, both PG and LG showed a decrease in organ weight and an increase in TUNEL (+) cells in the acinar cells. In conclusion, the PG and LG may show different regulation of proteasome and/or synthetic systems by *Cdc42*, resulting in opposite changes in AQP5 expression related to the secretion. Elucidating this mechanism may lead to the treatment of salivary insufficiency.

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

---



---

## 2-PM63 脂肪組織炎症を制御する microRNA の同定

---

○Elsheikh Malaz<sup>1</sup>, 佐野 朋美<sup>2</sup>, 溝上 顕子<sup>3</sup>, 兼松 隆<sup>2</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能分子, <sup>2</sup>九大 院歯 口腔機能分子, <sup>3</sup>九大 院歯 OBT セ

---

### Identification and characterization of a microRNA regulating adipocyte inflammation

---

○Elsheikh M<sup>1</sup>, Sano T<sup>2</sup>, Mizokami A<sup>3</sup>, Kanematsu T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Cell Biol Aging Sci & Pharmacol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>2</sup>Dept Cell Biol Aging Sci & Pharmacol, Fac Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>3</sup>OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ

---

#### Purpose

It is known that in obese subjects, there is a mild chronic inflammation throughout the body. Due to this systemic inflammation, in fat tissues, the secretion of chemokines such as monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) increases from fat cells, and adipocytes become hypertrophied due to locally evoked chronic inflammation. A well-recognized function of NF- $\kappa$ B signaling is to regulate inflammatory responses, which are regulated via canonical and non-canonical pathways. Micro RNAs (miRNAs) affect these inflammatory responses. Therefore, the aim of this study is to find a miRNA that can control adipocyte inflammation and to use the miRNA as a therapeutic target for ameliorating obesity and insulin resistance.

#### Materials & Methods

C57BL/6J wild type mice were fed either normal diet or high-fat diet for 8 weeks, and the alteration of miRNA expression in adipose tissues was analyzed by microarray and PCR. The expression of a miRNA of interest was further examined using 3T3-L1 cells stimulated with LPS or TNF- $\alpha$ . Western blot analysis was also performed to determine whether the miRNA is involved in the regulation of the two NF- $\kappa$ B signaling pathway.

#### Result & Conclusion

We focused on a miRNA, which was found by microarray and PCR analyses. The miRNA expression was significantly suppressed in TNF- $\alpha$ -stimulated 3T3-L1 cells compared with unstimulated controls. On the other hand, similar expression levels were observed in 3T3-L1 cells with and without LPS stimulation. TNF- $\alpha$  stimulation activates both NF- $\kappa$ B pathways, whereas LPS stimulation activates the canonical pathway. Thus, the miRNA expression may be controlled under non-canonical NF- $\kappa$ B pathway.

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

---

---

## 2-PM64 アクアポリン5レベルの異なるラット系統におけるアセチルコリンによる唾液分泌に対する血流動態の役割

---

○エムエステイ アッタータミナ, 根津 顕弘, 谷村 明彦

北医療大 歯 薬理

---

### Role of blood flow changes on acetylcholine-induced salivary secretion in rat strains with different level of aquaporin 5

---

○MST 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 rat strain with low AQP5 levels (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),  $Ca^{2+}$  response, and gene expression in submandibular gland (SMG) in AQP5/low, SD and Wistar/ST rats. **Materials & Methods** The expression of AQP5, TMEM16A, NKCC1, angiotensin II (Ang II) receptor (AT1R), and Ang-converting enzyme (ACE) in SMG were analyzed by Western blot and RT-PCR. Intracellular  $Ca^{2+}$  concentration ( $[Ca^{2+}]_i$ ) in dispersed SMG cells was measured by fluorescence spectrophotometer using fura-2. Whole saliva secretions and BF were examined by the cotton ball method and the laser speckle BF imaging system, respectively, with the intravenous infusion of ACh in anesthetized rats. **Results & Conclusions** The salivary secretions with high-dose of ACh (720~1440 nmol/min) in AQP5/low and Wistar/ST were ~70% of that in SD. The level of AQP5 in Wistar/ST were same as that in AQP5/low, and much lower than that in SD, suggesting that the AQP5 level 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 AQP5 levels. 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 observed below the resting level, whereas that in Wistar/ST were observed mostly above the resting level. We also found that the expression of AT<sub>1</sub>R and ACE in AQP5/low were significantly higher than that in Wistar/ST. These results suggest that Ang II-mediated vasoconstriction reduces ACh-dependent BF increase, resulting in low salivary secretion in AQP5/low. On the other hand,  $EC_{50}$  values for ACh-induced  $[Ca^{2+}]_i$  rise and gene expression levels of TMEM16A and NKCC1 were similar in these strains. These results indicate that the differences in salivary secretion with low-dose of ACh in these strains are attributable to the difference in BF rather than AQP5 level. Based on our results, we are currently screening for agents that enhance salivary secretion by weak secretory stimuli.

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

---

## 2-PM65 骨石灰化ラベリングと透明化技術を用いた扁平上皮癌による骨浸潤イメージング

○島谷 真梨<sup>1</sup>, 根津 顕弘<sup>2</sup>, 仙葉 慎吾<sup>2</sup>, 谷村 明彦<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北医療大 歯 組織再建口外, <sup>2</sup>北医療大 歯 薬理

【目的】口腔悪性腫瘍の多くは粘膜上皮に由来する扁平上皮癌であり、顎骨浸潤をしばしば認める。本研究では、マウス頭蓋骨を蛍光色素で経時的に染色し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて扁平上皮癌細胞(SCC7)による骨破壊像および骨形成抑制、宿主細胞との相互作用を解析した。【方法】C3H マウスにカルセイン(CL), アリザリンレッド(AR)の順で腹腔内投与した後、SCC7( $1 \times 10^6$ )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。またテトラサイクリン(TC)を頭頂骨摘出前日に投与して、その染色性を骨形成の指標とした。さらにGFPマウスを使って、宿主細胞と癌細胞の相互作用を解析した。摘出した頭頂骨はホルマリン固定とScale-S4による透明化後に共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。一部のマウスでは、TRAP染色により破骨細胞の分布を確認した。【結果】癌移植3日後にTC層の一部に非染色部位が認められたが、CL層及びAR層に骨破壊像は見られなかった。癌組織が頭蓋骨への定着する7日目以降では、全ての層に非染色部位が認められ、移植10日後ではAR層、CL層の非染色部位が拡大し、TC層がほぼ消失した。GFPマウスでは、GFP蛍光を持つ宿主由来の血管新生が観察された。骨破壊が見られた頭頂部の一部にはTRAP陽性細胞が観察された。【考察】TC層の染色性の低下から、SCC7による骨形成の抑制が示唆された。またCL層より表面に近いAR層で大きな骨破壊が見られたことから、骨表面から深部への骨吸収の進行が示唆された。さらにGFPマウスの結果から、癌組織周囲および内部に宿主細胞由来の血管が新生したことが確認された。【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。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。共同研究者 北医療大 歯 組織再建口外 志茂剛

【利益相反】利益相反状態にはありません。

### Imaging of bone invasion by squamous cell carcinoma using bone calcification labeling and tissue clearing techniques

○Shimatani M<sup>1</sup>, Nezu A<sup>2</sup>, Semba S<sup>2</sup>, Tanimura A<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Reconstructive Surg Oral Maxillofac Reg, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent, <sup>2</sup>Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent

Effects of squamous cell carcinoma cells (SCC7) on bone metabolism were examined using confocal laser scanning microscopy (CLSM) with tissue clearing technique. Mice were intraperitoneally administered with calcein (CL) and alizarin red (AR), and were implanted with SCC7 ( $1 \times 10^6$ ) just above the parietal bone. Mice were then administrated with tetracycline (TC) the day before the sampling. Three-dimensional structures of parietal bones were examined with CLSM after fixation with formalin and tissue clearing with Scale-S4. Three days after cancer transplantation, there was no bone destruction was seen in the CL and AR layers, whereas unstained areas were observed in a portion of the TC layer suggesting the suppression of bone formation by SCC cells. Unstained areas were observed in all layers after 7 days, and expanded after 10 days of transplantation. Large bone destruction was observed in the AR layer, which is closer to the surface than the CL layer, suggesting a progression of bone resorption from the bone surface to the deeper layers. TRAP-positive cells were observed in a portion of the parietal region where bone destruction was observed. We also examined the interaction between host cells and SCC7 using GFP mice, and observed angiogenesis with host-derived GFP-positive cells.

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

### 3-PG1 マウス胎仔を用いた口蓋突起挙上に関わる遺伝子発現領域の時空間的変化の解析

○長坂 新<sup>1</sup>, 崎山 浩司<sup>2</sup>, 坂東 康彦<sup>1</sup>, 小野澤 豪<sup>3</sup>, 天野 修<sup>1</sup>

<sup>1</sup>明海大 歯 組織, <sup>2</sup>明海大 歯 解剖, <sup>3</sup>明海大 歯 口腔顎顔面外科

二次口蓋は、舌をはさむように位置する左右の外側口蓋突起が舌の沈下に伴って水平方向に挙上し、やがて正中中部で接着・癒合することによってその形ができあがる。複雑な形成過程を辿る二次口蓋の発生過程において、遺伝子の発現は時空間的な制御が重要である。口蓋突起の挙上パターンが前後軸に沿って変化することは知られているが、どのような遺伝子が発現し、その位置がどのように変化するのかは不明である。そこで本研究では、口蓋突起の挙上に関わる遺伝子の発現領域の変化を明らかにすることを目的とした。挙上の前後における時空間的な変化を調べるため、挙上前・後のタイミングである胎生 13.5 日目と 14.5 日目のマウス胎仔の口蓋突起を用いて時間的な変化を調べた。また、前後軸に沿った(A) anterior 部, (M) middle 部, (P) posterior 部といった領域をそれぞれ(L)舌側と(B)頬側で区別し、空間的な変化を調べた。今回は、口蓋挙上に関わることが知られている分子(Pax9, Osr2, Tgfβ3), そして組織変形に関係していることが知られている分子(F-actin, E-cadherin, Ki67)の発現領域を免疫組織化学法と PCR 法を用いて調べた。その結果、Pax9 と Osr2 に発現領域の顕著な変化が見られた。Pax9 は間葉細胞に発現しており、挙上前では A・L 部と M・L 部に、そして P・B 部に発現が見られ、挙上後では A 部と M 部では突起全体に、そして挙上前と同様に P・B 部に発現が見られた。Osr2 は間葉細胞に発現しており、挙上前では A・B 部, M・B 部, L・B 部に発現が見られ、挙上後では突起全体に挙上前よりも弱い発現が見られた。他の分子では顕著な変化は見られなかった。今回、マウス胎仔口蓋突起の前後軸に沿った領域において、挙上の前後における遺伝子の発現領域の時空間的な変化を明らかにすることができた。今後はより短い時間間隔での遺伝子発現領域の変化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。

### Spatiotemporal gene expression regions in mouse embryos before and after palatal elevation

○Nagasaka A<sup>1</sup>, Sakiyama K<sup>2</sup>, Bando Y<sup>1</sup>, Onozawa G<sup>3</sup>, Amano O<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Hist, Meikai Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Anat, Meikai Univ Sch Dent, <sup>3</sup>Div Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch Dent

The mammalian secondary palate is formed through complex developmental processes: growth, elevation, and fusion. Although it is known that the palatal elevation pattern changes along the anterior-posterior axis, it is unclear what molecules are expressed and whether their locations change before and after elevation. We examined the expression regions of molecules associated with palatal shelf elevation (Pax9, Osr2, and Tgfβ3) and tissue deformation (F-actin, E-cadherin, and Ki67) using immunohistochemistry and RT-PCR in mouse embryos at E13.5 (before elevation) and E14.5 (after elevation). Pax9 was expressed at significantly higher levels in the lingual/nasal region in the anterior and middle parts, as well as in the buccal/oral region in the posterior part at E13.5. At E14.5, Pax9 was expressed at significantly higher levels in both the lingual/nasal and buccal/oral regions in the anterior and middle parts and the buccal/oral regions in the posterior part. Osr2 was expressed at significantly higher levels in the buccal/oral region in all parts at E13.5 and was more strongly expressed at E13.5 than at E14.5 in all regions. No spatiotemporal changes were found in the other molecules. These results suggested Pax9 and Osr2 are critical molecules leading to differences in the elevation pattern in palatogenesis.

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



### 3-PG2 マウス舌の形態形成と細胞挙動

○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

舌の形成は下顎突起背側部の外側舌隆起の形成から始まり, その後, 舌筋系譜の細胞の集積を伴いながら, 舌として機能しうる形態へと変化していく. 本研究では, マウス舌原基の構成細胞の挙動と細胞間相互作用に働くシグナル分子に着目し, 舌の形態形成の機序について検討した. ICR マウス胎仔 (胎生 9.0~18.5 日) から, 舌原基を含む連続薄切切片を作製し, 特異抗体を用いた免疫組織化学による解析を行った. 舌の形態形成に関わるシグナル分子の探索では DNA マイクロアレイと IPA ならびにリアルタイム PCR による遺伝子発現の解析を行った. 胎生 10.5 日から下顎突起の癒合が始まり, 胎生 11.5 日で二峰性の外側舌隆起の形成がみられた. 胎生 12.5 日になると辺縁部で上皮陥入しはじめ, 胎生 13.5 日以降, 舌の形状へと移行していくのが確認された. 舌筋前駆細胞は後頭体節から下顎突起正中部に移住して, 胎生 10.5 日頃に下顎突起正中付近に舌筋細胞系譜の集団を形成したが, 外側舌隆起では筋系譜の細胞が不在で神経堤由来と推定される増殖活性の高い非筋系譜の間葉細胞により構成されていた. 外側舌隆起下の舌筋系譜の細胞集団は釣鐘状の分布を呈し, 集団上部が舌原基の正中溝上皮と基底膜を介して接しており, その後, 正中溝上皮の引き上げに伴って細胞集団が舌膨隆部に位置するようになった. 舌原基での DNA マイクロアレイ解析では, 外側舌隆起の形成段階 (胎生 10.5 日⇒11.5 日) で, 筋分化関連遺伝子群だけでなく, 上皮と舌筋系譜/非筋系譜細胞間での相互作用を担う候補遺伝子が列挙された. これらの所見から, 外側舌隆起では被覆上皮と上皮下舌筋系譜の細胞集団および非筋系譜の細胞で分布領域を分けており, 各細胞間での相互作用が推察された. 本研究は科研費 (#21K09822, #18K09530, #15K11024) の援助により行われた. 会員外共同研究者: 生命歯学部自然科学教室 豊田健介.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

### Tongue morphogenesis and cell behavior in embryonic mice

○Taya Y, Kawamoto S, Hani T, Kudo T, Sato K, Soeno Y  
Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

Tongue primordium, the lateral lingual swellings, become discernible in histologic views at first. In this study, we investigated the mechanisms of tongue morphogenesis, focusing on the behavior of the component cells of tongue primordium and the signaling molecules that act in cell-cell interactions in embryonic mice. ICR mouse embryos from E9.5–18.5 were used to collect the tissues including tongue primordia. Gene expression profiling was performed using DNA microarray and IPA, and was validated by qPCR. Developmental stages and cell characterization were examined by immunohistochemistry. The myogenic cells contacted the epithelium underneath the median sulcus of lateral lingual swellings and created a massive cellular community in the central region of the primordium. The lateral lingual swellings were occupied by only non-myogenic lineage cells with high proliferative activity, suggesting that the lateral lingual swellings are formed by non-muscle lineage cell proliferation. Gene expression analyses revealed that the genes of higher expression levels, e. g. *Shh*, *Bmp4*, *Msx1*, and *eHand*, were detected in the medial region of lateral lingual swellings at E11.5. These findings suggest that tongue morphogenesis results from interactions between cells of the epithelium and the lingual myogenic and non-myogenic lineages. Supported by JSPS KAKENHI Grant numbers 15K11024, 18K09530 & 21K09822.

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

### 3-PG3 転写因子 Nfix による胎生期マウスの舌筋分化制御

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

<sup>1</sup>日歯大 生命歯 病理, <sup>2</sup>神奈川こども医療セ 臨床研 歯科

【緒言】胎生期の骨格筋発生では、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であることが示唆されている。我々はこれまでに、マウス舌原基での Nfix 発現が胎生 10.5 日から胎生 11.5 日にかけて急速に上昇することを明らかにしている。本研究では、舌筋形成段階の Nfix を中心とした分子機構について検討した。【材料と方法】胎生 10.5 日および 11.5 日の ICR マウス胎仔から採取した舌原基を Trowell 法器官培養に供し、Nfix に対する Morpholino アンチセンスオリゴ核酸を使った Nfix 阻害を行った。培養 96 時間後の試料に対して qPCR による筋分化関連分子群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。【結果と考察】胎生 10.5 日採取試料での Nfix アンチセンスオリゴ核酸添加群 (Nfix 阻害群) では、Nfix の下流で胎性筋芽細胞分化に関わる遺伝子 (Eno3) の発現低下が認められた。H-E 染色による組織所見では、対照群と Nfix 阻害群とで形成された舌のサイズ・幅に大きな差は認められず、細胞増殖活性を示す Ki-67 陽性細胞の局在・出現パターンもほぼ同等であった。筋系譜細胞マーカー Desmin の免疫染色では、対照群と Nfix 阻害群で共に上皮に被覆された Desmin 陽性細胞集団を検出できたが、対照群における陽性細胞集団の舌背側では扁平状・紡錘形を呈した陽性細胞が多くみられるのに対し、Nfix 阻害群では少数にとどまった。これらの傾向は胎生 11.5 日採取からの培養試料では明確に認められなかった。以上の結果から、Nfix は舌原基の発生初期から筋芽細胞分化を調整することで複雑な走行を呈する舌筋組織の構築に関与す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。

### Transcription factor Nfix regulates myogenic differentiation in embryonic mouse tongue development

○Sato K<sup>1</sup>, Kawamoto S<sup>1</sup>, Taya Y<sup>1</sup>, Sasaki Y<sup>2</sup>, Hani T<sup>1</sup>, Tsubosaki K<sup>1</sup>, Kudo T<sup>1</sup>, Soeno Y<sup>1</sup>

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

Nuclear factor I X (Nfix) is an important transcription factor in regulating the differentiation of embryonic to fetal myoblasts. We have shown that Nfix expression in mouse tongue primordium rapidly increased from embryonic day (E) 10.5 to 11.5. In this study, we investigated Nfix-mediated molecular mechanisms during tongue muscle development. Tongue primordia dissected from ICR mouse embryos at E10.5 or E11.5 were organ-cultured by Trowell method for 96 hours in the presence/absence of morpholino antisense-oligodeoxynucleotide (AS-ODN) against Nfix transcripts, and expression of myogenic markers were analyzed by qPCR and immunohistochemistry. E10.5-derived culture specimens with the AS-ODN (Nfix-inhibited group) decreased expression of its downstream target Eno3. Histological observation showed no significant difference in the size and width of the developing tongue between Nfix-inhibited and mock/control groups. Immunohistochemistry for Desmin, a myogenic cell marker, revealed that Desmin-positive cells at the dorsal area exhibited a flat to spindle shape in the mock/control group, whereas only a few were found in the Nfix-inhibited group. No comparable findings were seen in the E11.5-derived cultures. The results suggest that Nfix is involved in the intricate configuration of tongue muscles by regulating myoblast differentiation from early stage of tongue development. Supported by JSPS KAKENHI Grant #15K11024 and #21K09822.

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

---

### 3-PG4 歯の発生期と象牙芽細胞再生時における NG2 陽性細胞の挙動

---

○黄地 健仁<sup>1</sup>, 倉島 竜哉<sup>1</sup>, 木村 麻記<sup>1</sup>, 黒田 英孝<sup>2</sup>, 溝口 利英<sup>3</sup>, 澁川 義幸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 生理, <sup>2</sup>神歯大 院歯 歯科麻酔, <sup>3</sup>東歯大 口科研

---

目的：歯髓最外層に位置する象牙芽細胞は感覚受容機能を有し、また象牙質石灰化を駆動する最終分化細胞である。近年、マウス切歯の象牙芽細胞周辺に位置する血管周囲の周皮細胞 (Pericyte) と歯髓血管網が構築する微小環境の存在が報告された (Khatibi Shahidi et al., 2015)。Pericyte が何らかの理由で象牙芽細胞と相互作用していることを示唆しているが、発生段階や病態生理的状态におけるその詳細なプロファイルは未だ不明である。本研究では Pericyte と象牙芽細胞を標識する分子マーカー抗体を用いて発生期と病態生理的条件下での発現パターンを明らかにすることを目的とした。方法：表現型を示さないマウス歯原性間葉細胞 (胎生 18.5 日) から樹立された象牙芽細胞系細胞 (Odontoblast-lineage cells; OLCs) と遺伝子制御下によるジフテリア毒素誘導性の象牙芽細胞死滅モデル遺伝子改変マウス (生後 8 週齢) を用い、Pericyte マーカーと象牙芽細胞関連の分子マーカーによる蛍光免疫染色解析を実施した。結果：OLCs を用いた解析では細胞の大多数を Pericyte マーカーである NG2 に陽性を示す細胞が占めることが明らかになった。象牙芽細胞死滅モデル遺伝子改変マウスでは、象牙芽細胞の死滅後に歯髓の細胞稠密層に NG2 と象牙芽細胞マーカー Nestin, DSPP (Dentin Sialophosphoprotein) 抗体に対して陽性を示す細胞集団が集積した。考察：OLCs のほぼ全ての細胞が NG2 を発現しており、歯原性間葉細胞の NG2 陽性細胞は Pericyte のみならず、幹細胞性質を有する未分化間質細胞の性質を保持している可能性が示唆された。発生期において Pericyte と未分化間質細胞が象牙芽細胞の発生起源である可能性が示された。また、象牙芽細胞の死滅を起点とし、Pericyte が象牙芽細胞様細胞に分化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。

---

### Behavior of NG2-positive cells in tooth development and odontoblast regeneration

---

○Ouchi T<sup>1</sup>, Kurashima R<sup>1</sup>, Kimura M<sup>1</sup>, Kuroda H<sup>2</sup>, Mizoguchi T<sup>3</sup>, Shibukawa Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup>Dept Dent Anesthesiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll

---

[Purpose]: Odontoblasts are terminal differentiated cells showing mechanosensitivity and mineralization capacity. Recently, presence of pericytes located around odontoblasts and vascular networks of the dental pulp in the mouse incisor has been described (Khatibi Shahidi et al., 2015). Although it indicates that pericytes interact with odontoblasts in some reasons, its detailed profiles in developmental as well as physiological and pathological conditions are still remained unclear. To address these questions, we analyzed cellular antigen of pericyte and odontoblast markers by immunostaining. [Methods]: We used tooth germ (embryonic day 18.5) derived odontoblast-lineage cells (OLCs) and diphtheria toxin inducible genetic odontoblast depletion model (8 weeks after birth). [Results]: OLCs showed that most cells were positive for pericyte marker, NG2. Cells in genetic odontoblast depletion model showed that NG2-positive cells, Nestin-positive odontoblast progenitors, and DSPP-positive odontoblasts proliferated in cell rich zones. [Discussion]: Almost all cells of OLCs expressed NG2, suggesting that NG2-positive cells of odontogenic mesenchymal cells may retain characteristic of not only pericytes but also immature stromal cells with stem cell properties. Development of odontoblasts may originate from both pericytes and immature stromal cells. Pericyte may transdifferentiate into odontoblast-like cells by odontoblasts death.

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

---



### 3-PG5 味蕾の基底細胞は mTOR シグナリングを介して体内栄養状態をモニターする

○高井 信吾<sup>1</sup>, 岩田 周介<sup>1,2</sup>, 實松 敬介<sup>1,2,3</sup>, 川端 由子<sup>4</sup>, 平山 彩夏<sup>1,5</sup>, 渡邊 雄<sup>1,6</sup>, 重村 憲徳<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能解析, <sup>2</sup>九大 五感応用デバイス研究開発セ, <sup>3</sup>九大 OBT 研究セ, <sup>4</sup>九大 院歯 口腔機能分子科学, <sup>5</sup>九大 院歯 歯科矯正, <sup>6</sup>九大 インプラント・義歯補綴

mechanistic target of rapamycin (mTOR) は細胞外の栄養素や細胞内エネルギーを感知して, 70 S6K (S6 キナーゼ) をリン酸化するセリン/スレオニンキナーゼである. mTOR は様々な臓器で細胞増殖, タンパク質合成, オートファジーなどの生理学的プロセスにおける不可欠な調節因子として作用することが報告されている. マウス有郭乳頭において, mTOR の mRNA 発現を in situ hybridization により検証したところ, 一部味細胞および味蕾幹細胞が多く存在する味蕾基底領域に強い発現が見られた. 味蕾幹細胞を含む組織を3次元培養した味蕾オルガノイドを用いた解析では, 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数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. マウスを用いた実験では, 24時間の絶食後, 再給餌を行うと, 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 (mTOR の活性化) が観察された. リン酸化が見られた細胞の一部は味蕾前駆細胞マーカーである Shh を発現していた. また, この栄養刺激によるリン酸化はラパマイシンの事前投与でほぼ完全に消失した. ラパマイシン (10 mg/kg b.w.) を1ヶ月間腹腔内投与し, 継続的に mTOR の活性を抑制したマウスでは, 味蕾内でアポトーシスを起こす細胞が増加していた. 一方, 味蕾の面積, 味蕾基底部の増殖細胞マーカー (Ki67), 味蕾内に含まれる II 型細胞, III 型味細胞の数はコントロール群とラパマイシン投与群で大きな差は見られなかった. 以上の結果から, 味蕾の基底細胞は体内の栄養状態を感知し, 味蕾の組織恒常性を調節する可能性が示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

#### A subset of taste bud cells sense internal nutritional status via mTOR signalling

○Takai S<sup>1</sup>, Iwata S<sup>1,2</sup>, Sanematsu K<sup>1,2,3</sup>, Kawabata Y<sup>4</sup>, Hirayama A<sup>1,5</sup>, Watanabe Y<sup>1,6</sup>, Shigemura N<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>2</sup>R and D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ, <sup>3</sup>OBT Cent, Kyushu Univ, <sup>4</sup>Dept Cell Biol, Aging Sci, Pharmacol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>5</sup>Sect, Orthodont and Dentofac Orthoped, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>6</sup>Sect Implant and Rehabil Dent, Kyushu Univ

Mechanistic target of rapamycin (mTOR) is a serine/threonine kinase that senses extracellular nutrients and intracellular energy status and phosphorylates 70 S6K (S6 kinase). In mouse circumvallate papilla (CV), mTOR mRNA expression was observed in some taste cells and the basal region of taste buds. Analysis using the 3-dimensional taste bud stem cell culture showed that the addition of rapamycin (mTORC1 inhibitor) significantly increased the number of taste cells and the expression of various taste cell marker mRNAs in a concentration-dependent manner. In mice CV, strong phosphorylation of S6 kinase (activation of mTOR) was observed in a subset of taste cells and basal cells after 24 hours of fasting and 2 hours of refeeding. In addition, this nutrient-stimulated phosphorylation was almost completely abolished by the administration of rapamycin. In mice with long-term suppression of mTOR activity with the administration of rapamycin for 1 month, the apoptotic cells in the taste buds were increased. On the other hand, the area of taste buds, proliferating cells, and the number of taste cells were not altered. These results suggest that a subset of basal cells in taste buds sense the internal nutritional status and regulate the tissue homeostasis.

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



---

### 3-PG6 マウス顎顔面形態形成過程における一次繊毛関連遺伝子の機能

---

○中富 満城<sup>1</sup>, 松山 佳永<sup>2</sup>, 片岡 真司<sup>2</sup>, 豊野 孝<sup>2</sup>, 瀬田 祐司<sup>2</sup>

<sup>1</sup>産業医大 産業保健 人間情報科学, <sup>2</sup>九歯大 歯 解剖

【背景】脊椎動物のほとんど全ての細胞には一次繊毛という突起があり、近年の研究により Wnt シグナルや Sonic hedgehog シグナルの活性化の場としての機能を有する事が報告されている。この一次繊毛に関連する遺伝子の異常によって繊毛病と総称される様々な疾患が発症する。本研究で着目する Inversin (Inv) と Nephrocystin 3 (Nphp3) は繊毛病である腎ネフロン癆の原因遺伝子として同定され、いずれも一次繊毛に関連するタンパクをコードする。しかしながら顎顔面形態形成過程における両遺伝子の機能については未解明である為、本研究にて解析を試みた。【方法】対照群マウスおよび Inv (null・胎齢 18 日)・Inv (deltaC・生後 2 週齢)・Nphp3 (G2A・生後 2 週齢)・Nphp3 (pcy・生後 8 週齢) の 4 種類の遺伝子変異マウスを用いた。実体顕微鏡を用いた上下顎の外表的な観察およびパラフィン切片の H&E 染色を用いた組織学的解析により、歯および口腔の表現型について比較検討した。【結果】Inv (null) では二次口蓋裂や顎下腺管の拡張が認められた。Inv (deltaC) では切歯の先端が鈍円化していた。Nphp3 (G2A) では切歯の全長が短縮していた。Nphp3 (pcy) では切歯の萌出方向の異常や臼歯の低咬頭が認められた。【考察】一次繊毛関連遺伝子である Evc の欠損マウスにおいても同様に切歯の先端の鈍円化や全長の短縮が報告されていることから、一次繊毛の正常な機能は切歯先端部の形態形成や切歯の近遠心軸方向の適切な成長に必須であると考えられる。またネフロン癆では尿細管の異常により腎嚢胞を呈する事から、Inv (null) で観察された顎下腺管の拡張も共通の機構に起因する可能性がある。

非会員共同研究者：中島由郎（京府医大・医・解剖）

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### A role of primary cilium related genes during mouse craniofacial development

---

○Nakatomi M<sup>1</sup>, Matsuyama K<sup>2</sup>, Kataoka S<sup>2</sup>, Toyono T<sup>2</sup>, Seta Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Human, Information and Life Sci, Sch Health Sci, Univ of Occupational and Environmental Health, <sup>2</sup>Div Anat, Kyushu Dent Univ

In this study we aimed to clarify specific roles of primary cilium related genes during mouse craniofacial development. We analyzed four different types of Inversin (Inv) and Nephrocystin 3 (Nphp3) mutant mice. We found secondary cleft palate and expansion of submandibular duct in Inv (null) embryos, malformation of the tip of the lower incisor in Inv (deltaC) mice, shortening of the lower incisor in Nphp3 (G2A) mice, and abnormal erupting direction of the lower incisor in Nphp3 (pcy) mice. These results indicate that Inv and Nphp3 are essential for proper tooth and craniofacial development.

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

---

---

### 3-PG7 唾液エクソソームの調製法と舌がん由来細胞株エクソソームとの比較

---

○今井あかね<sup>1</sup>, 竹澤 晴香<sup>2</sup>, 岡 俊哉<sup>3</sup>, 辻村麻衣子<sup>4</sup>

<sup>1</sup>日歯大 新潟短大 歯科衛生, <sup>2</sup>日歯大新潟 生化, <sup>3</sup>日歯大新潟 生物, <sup>4</sup>日歯大新潟 解剖 2

**【目的】** エクソソームは新しい細胞間情報伝達システムとして注目されている。その役割は多岐にわたり、臨床分野で応用が期待されている。唾液中にもエクソソームが存在しているが、唾液には多くのタンパク質が存在しており、約 100 nm の粒径であるエクソソームを単離して、内包されているタンパク質を解析するには困難な状況である。そこで本研究では唾液エクソソームに関して、調製方法の検討と舌がんが放出するエクソソームとの比較を行った。**【対象・方法】** 健常成人女性および小学生より全唾液の提供を受けた {研究倫理委員会の承認(NDUC-70-1)}。Total Exosome Isolation Reagent (TEI) (Invitrogen) または DiagExo<sup>®</sup> Human Body Fluid Exosome Isolation kit (HBEI) (101 Bio) を用いた方法、ペレットダウン超遠心法 (PDUC)、Optiprep を用いたシヨ糖密度勾配超遠心法 (DGUC) および PDUC/qEV カラム併用法 (PDUC/qEV) により唾液エクソソームを調製した。また、舌がん由来細胞株の培養上清 (SAS) より PDUC によりエクソソームを調製した。エクソソームマーカータンパク質のウエスタンブロットティングによりエクソソームを確認した。**【結果・考察】** TEI 法および PDUC 法では安定的なエクソソームの調製が行えたが、エクソソーム外の唾液タンパク質の混入がかなりあると考えられた。PDUC/qEV では精製度が格段に上がった。HBI および DGUC では収量が検出限界以下となった。また、SAS と唾液エクソソームのマーカータンパク質では発現に相違があった。**【結論】** PDUC/qEV により精製を試み、より精製度の高いエクソソーム抽出に成功した。SAS と唾液間ではエクソソームマーカータンパク質に違いが見られた。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Preparation of exosomes from whole human saliva and their comparison with those from SAS cell medium

---

○Imai A<sup>1</sup>, Takezawa H<sup>2</sup>, Oka S<sup>3</sup>, Tsujimura M<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ Coll at Niigata, <sup>2</sup>Dept Biochem Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>3</sup>Dept Biol Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>4</sup>Dept Histol Nippon Dent Univ at Niigata

**【Purpose】** Exosomes as a new cell-cell communication system are gaining attention for their novel applications in the clinical field. Exosomes are present in saliva; however, they are surrounded by several other salivary proteins. Therefore, isolating exosomes with a particle size of approximately 100 nm and analyzing the contained proteins is challenging. In this study, we examined various preparation techniques for salivary exosomes and compared them with those released by SAS cells.

**【Subjects & Methods】** Whole saliva was obtained from healthy women and elementary school students. Exosomes were purified by Total Exosome Isolation Reagent (TEI) or Diag Exo<sup>®</sup> Human Body Fluid Exosome Isolation kit (HBEI), pellet-down ultracentrifugation (PDUC), sucrose density gradient ultracentrifugation using Optiprep (DGUC), and PDUC/qEV column combination method (PDUC/qEV). Exosomes released from SAS were isolated by PDUC. Their purity was confirmed by western blotting analyses for exosomal marker proteins.

**【Results & Conclusion】** Exosomes could stably be prepared with TEI and PDUC techniques; however, they included contaminant salivary proteins present outside the exosomes. Purification improved dramatically with the PDUC/qEV technique. The expression levels of SAS and salivary exosome marker proteins were different.

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

---

---

### 3-PG8 耳下腺腺房細胞における分泌タンパク質の選別機構

---

○吉垣 純子, 横山 愛, 加藤 治

日大松戸歯 生理

【目的】唾液腺腺房細胞は多種類のタンパク質を合成分泌するが、その分泌経路には合成したタンパク質を一度分泌顆粒に貯留し刺激依存的に分泌する調節性経路と、合成後直ちに小胞で分泌する構成性経路の2つが存在する。その振り分けはゴルジ装置で行われていると考えられているが、詳しいメカニズムは明らかにされていない。これまで唾液タンパク質である parotid secretory protein (Psp) と血漿タンパク質であるエリスロポエチン (Epo) の輸送を比較したところ、Psp は Epo と比較して細胞内に多く貯留することから、分泌顆粒への輸送効率が高いことが明らかになった。そこで本研究では、2つのタンパク質の分泌顆粒内での複合体形成について解析した。

【方法】Psp, または Epo とレポータータンパク質 HaloTag との融合タンパク質 (Psp-Halo, Epo-Halo) の発現系を作製し、耳下腺腺房細胞の初代培養細胞に発現させた。細胞から分泌顆粒を含む画分を回収し、Blue Native PAGE を行った。トランスファー後、抗 HaloTag 抗体によるウエスタンブロッティングを行い、Native な状態と変性状態での分子量を比較した。

【結果と考察】変性状態では Psp-Halo は Epo-Halo よりも分子量が低いのに対して、Native な状態では Psp-Halo の方が泳動度が低かった。Epo-Halo は変性状態でも Native でもほとんど分子量に差がみられなかったことから、Epo-Halo が分泌顆粒内で単量体であるのに対して Psp-Halo は何らかの複合体を形成していることが予想された。複合体形成が分泌顆粒への輸送を促進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。

---

### Sorting mechanism of secretory proteins in parotid acinar cells

---

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

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

Salivary acinar cells have two pathways for protein secretion: the regulated and constitutive pathways. Proteins in the regulated pathway are stored in secretory granules until stimulus-induced secretion and those in the constitutive pathway are released immediately after protein synthesis. The sorting mechanism is unknown. To analyze the mechanism, two HaloTag-fused proteins with parotid secretory protein (Psp-Halo) and erythropoietin (Epo-Halo) were expressed in the primary culture of parotid acinar cells. We previously found that most Epo-Halo was released to the medium without retention in the cells. Psp-Halo was more accumulated in the cells than Epo-Halo, suggesting that Psp-Halo was efficiently transported to secretory granules. In this study, we investigated the complex formation of the two HaloTag-fused proteins in secretory granules in Blue Native PAGE analysis. As a result, the electrophoretic mobility of Epo-Halo was scarcely changed in both denatured and native conditions. In contrast, native Psp-Halo has lower mobility than the denatured form. These results suggest that Psp-Halo forms complex in secretory granules while Epo-Halo is a monomer. The complex formation in secretory granules may be one of the reasons that Psp was efficiently transported to and stored in secretory granules.

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

---

---

### 3-PG9 BMP2 は耳下腺初代培養細胞の細胞増殖能を高める

---

○横山 愛, 加藤 治, 吉垣 純子

日大松戸歯 生理

Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP2) は骨組織や軟骨の分化に関与している。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ことから、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。7 週齢の C57BL/6 マウス片側耳下腺排泄導管をマイクロクリップにて 7 日間結紮後、耳下腺を摘出し重量を測定後、HE 染色および BMP2 のリアルタイム PCR を行った。続いて、5 週齢の C57BL/6 マウスの耳下腺を摘出しコラゲナーゼ、ヒアルロニダーゼによる酵素処理を施し耳下腺腺房細胞の初代培養細胞を作製した。初代培養細胞に BMP2 タンパク質 (100 ng/ml) を培地中に添加し作用させ、48 時間培養後に細胞増殖能を検討した。最後に、7 週齢の C57BL/6 マウス片側耳下腺排泄導管を 7 日間結紮したマウスの耳下腺を摘出し、抗 Ki-67 抗体における免疫組織化学染色を施し陽性細胞率を算出した。コントロールとして、導管結紮を行う実験では偽手術を行った耳下腺、初代培養細胞を用いた実験では BMP2 非添加細胞を使用した。HE 染色より導管結紮を行った耳下腺では腺房細胞が萎縮していた。重量もコントロールと比較して減少していた。BMP2 の遺伝子発現量は導管結紮を行った耳下腺で有意に増加していた。BMP2 を添加した初代培養細胞では、細胞増殖能がコントロールと比較して高値を示した。結紮 7 日後の耳下腺における陽性細胞率は、コントロールと比較して有意に増加していた。以上のことから、BMP2 は耳下腺においても結紮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。

---

### BMP2 enhances the proliferative capacity in primary culture of parotid acinar cells

---

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

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

Although BMP2 induces bone tissue and cartilage differentiation, it has been reported that expression levels increase after pancreatic duct ligation. The structures of pancreatic exocrine tissue and parotid gland are similar. Therefore, we studied expression of BMP2 and the role in injured parotid glands. Using a micro clip, mouse parotid glands were removed at 7 days after the ligation of the unilateral parotid excretory duct. Thereafter, they were weighed and stained with hematoxylin and eosin, and BMP2 expression was examined by real-time RT-PCR. Primary cultures of parotid glands were prepared and BMP2 protein was added to the culture medium to examine its effect on cell proliferation. Finally, immunohistochemical staining using an anti-Ki67 antibody was performed. Duct-ligated parotid glands weighed less than those that were collected after sham surgery, and showed acinar cell atrophy. They also showed higher BMP2 expression than the control. Primary cultured parotid acinar cells supplemented with BMP2 showed higher proliferative potential than the control. The percentage of Ki67-positive cells was also higher than that corresponding to the controls. Injury to salivary glands by excretory duct ligation increased BMP2 expression, which may be involved in maintaining salivary gland function by inducing cell proliferation in salivary acinar cells.

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

---



---

### 3-PG10 マウス耳下腺における脂肪酸輸送体 CD36 の発現と唾液分泌への関与

---

○佐藤慶太郎<sup>1</sup>, 大野 雄太<sup>2</sup>, 長瀬 春奈<sup>2</sup>, 柏俣 正典<sup>2</sup>, 安達 一典<sup>1</sup>

<sup>1</sup>明海大 歯 薬理, <sup>2</sup>朝日大 歯 薬理

---

**【目的】**加齢によるドライマウスは、漿液性唾液の分泌量減少が要因とされている。しかし、漿液性唾液を分泌する耳下腺への老化の影響は明らかではない。一方、ラットやマウスでは加齢により耳下腺周囲に脂肪組織が増える。そこで我々は、耳下腺における脂肪酸輸送体の発現と唾液分泌への影響について、雄性 BALB/c マウスおよび雄性老化促進マウスを用いて検討した。

**【方法】**三大唾液腺における脂肪酸輸送体 CD36 の mRNA 量を qPCR により検討した。CD36 の耳下腺組織内局在を免疫染色により検討した。唾液分泌量は、三種混合麻酔下にて測定した。CD36 阻害剤 sulfosuccinimidyl oleate (SSO) (16.8 mg/kg) または 0.5% DMSO を腹腔内投与し、20 分後にムスカリン受容体アゴニストのピロカルピン (Pilo) (0.5 mg/kg 体重) を腹腔内投与し、口腔内に貯留した全唾液を回収した。耳下腺 CD36 のタンパク質量はウェスタンブロッティングにより検討した。

**【結果と考察】**8, 24, 72 週齢 BALB/c において、CD36 量は耳下腺が最も多かった。8 および 48 週齢 BALB/c 耳下腺において、CD36 は導管細胞に特異的な発現を認めた。一方で、腺房部に発現を認めなかった。Pilo 誘発性唾液の分泌量は、8 および 48 週齢で DMSO 投与群に比べ SSO 投与群で有意に減少した。より高度に加齢したマウスで検討するため、老化促進マウス SAMP1、その対照となる正常加齢マウス SAMR1 を用いた。CD36 タンパク質量は、SAMR1 に比べ SAMP1 で有意に低下した。Pilo 誘発性唾液の分泌量は、SAMR1 に比べ SAMP1 で有意に減少した。以上から、CD36 は耳下腺導管細胞で漿液性唾液分泌に寄与し、その発現量の変化がドライマウス発症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。

---

#### Involvement of FAT/CD36 expression in parotid salivary secretion in male mouse

---

○Sato K<sup>1</sup>, Ohno Y<sup>2</sup>, Nagase H<sup>2</sup>, Kashimata M<sup>2</sup>, Adachi K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent

---

Dry mouth is observed commonly in middle-aged and elderly patients. We hypothesized that the reduction in expression of fatty acid translocase (FAT/CD36), which facilitates fatty acids transportation, induces dry mouth through the hyposecretion in the parotid gland (PG). In this study, the CD36 expression was detected by qPCR in major salivary glands of male 8-, 24- and 72-weeks BALB/c mice. The CD36 in PG was superior to other salivary glands. Also, localization of CD36 protein in PG from BALB/c mice were observed by immunohistochemistry. CD36 were expressed in duct cells, but not in acinar cells. Then, effect of CD36 inhibitor sulfosuccinimidyl oleate (SSO) on the salivary secretion of 8-weeks BALB/c mice was assessed. SSO reduced pilocarpine (Pilo)-induced salivation. Moreover, the involvement of PG CD36 in the salivary secretion of male 48-weeks senescence-accelerated mouse (SAM) was investigated. Compared with SAM resistant 1 (SAMR1), the Pilo-induced salivation in age-matched SAM prone 1 (SAMP1) was decreased. In addition, the CD36 protein expression in PG was investigated by western blotting, and the expression of CD36 of SAMP1 was lower than that of SAMR1. These results suggest that the CD36 plays an important role in the aging-induced hyposecretion of PG in duct.

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

---

### 3-PG11 アセチルコリン刺激による顎下腺全体で起こる $\text{Ca}^{2+}$ オシレーションと血流振動の制御メカニズム

○根津 顕弘<sup>1</sup>, 森田 貴雄<sup>2</sup>, 石井 久淑<sup>3</sup>, 谷村 明彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北医療大 歯 薬理, <sup>2</sup>日歯大新潟 生化, <sup>3</sup>北医療大 歯 生理

アセチルコリン (ACh) の持続投与により, 顎下腺に組織レベルで同調した  $\text{Ca}^{2+}$ オシレーションが観察される. 本研究では, この  $\text{Ca}^{2+}$ 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  $\text{Ca}^{2+}$ センサーを使った in vivo  $\text{Ca}^{2+}$ イメージングと2次元レーザー血流イメージングにより, ラット顎下腺の  $\text{Ca}^{2+}$ 応答と血流動態の解析を行った. 低濃度 ACh の持続投与 (60~90 nmol/min) によって, 約 50~70 秒周期で顎下腺全体の細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) が上昇・低下を繰り返す  $\text{Ca}^{2+}$ オシレーションが観察された. この  $\text{Ca}^{2+}$ 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, 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, この  $\text{Ca}^{2+}$ オシレーションはカルシウム拮抗薬によって  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が振動しない持続的な上昇へ変化したことから, 顎下腺血流の関与が示された. そこで低濃度 ACh (60 nmol/min) による顎下腺の血流動態を可視化したところ,  $\text{Ca}^{2+}$ と同様に約 50 秒周期で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 投与による顎下腺局所の血流振動は, 前, 中央, 側方, 後部の様々な部位で観察された. この血流振動は, カルシウム拮抗薬, アンジオテンシン II (Ang II) 受容体拮抗薬あるいは Ang 変換酵素 (ACE) 阻害薬の前投与により抑制された. さらに ACE 阻害下で抑制された血流振動は Ang II の持続投与により回復したことから, Ang II による血管収縮が重要な役割を果たすことが明らかとなった.  $\text{Ca}^{2+}$ 応答と血流動態を同時に測定すると, 腺房細胞の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が血流に先行して上昇することから, 腺房細胞から放出される何らかの因子が血管拡張を起こした可能性が考えられる. そのメカニズムはまだ不明であるが, 腺房細胞の代謝亢進による二酸化炭素の発生や一酸化窒素などの血管弛緩物質の放出による血管拡張が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.

### Regulation mechanism of $\text{Ca}^{2+}$ and blood flow oscillations occurring throughout a submandibular gland induced by acetylcholine

○Nezu A<sup>1</sup>, Morita T<sup>2</sup>, Ishii H<sup>3</sup>, Tanimura T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>3</sup>Div Physiol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent

Intravenous infusion of acetylcholine (ACh) induced  $\text{Ca}^{2+}$  oscillations synchronized at the tissue level in rat submandibular gland (SMG). To examine the mechanism of the synchronized  $\text{Ca}^{2+}$  oscillations in SMG, we monitored  $\text{Ca}^{2+}$  responses and blood flows (BF) in live animals using the intravital  $\text{Ca}^{2+}$  imaging system and the laser speckle BF imager. Monitoring of BF dynamics demonstrated that ACh caused oscillatory changes in BF in SMG. The BF oscillation showed a diverse spacial patterns occurring from anterior, intermediate, lateral, and posterior regions of SMG. Preadministration of calcium antagonist, or an angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor changed the BF oscillations to a sustained increase in BF without fluctuation. After the attenuation of BF fluctuation by the ACE inhibitor, intravenous infusion of angiotensin II (Ang II) recovered BF oscillation. These results indicate that vasoconstriction by Ang II plays a critical role in the regulation of BF oscillations. Furthermore, simultaneous monitoring of  $\text{Ca}^{2+}$  and BF dynamics in SMG revealed that the increase in intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  concentration ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) preceded the increase in BF in most cases (85%). These results suggest that the  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  rise in acinar cells leads vasodilation through the production of localized diffusible substances, such as nitric oxide in the SMG.

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

---

### 3-PG12 プロカテプシン B を指標にしたラット耳下腺における新規生成顆粒の分泌能の検討

---

○加藤 治, 横山 愛, 吉垣 純子

日大松戸歯 生理

---

【目的】耳下腺腺房細胞の分泌顆粒はゴルジ体で生成後、顆粒同士の融合、膜リモデリングを経て成熟顆粒となる。ラット腹腔にイソプロテレノール (Iso) を投与 (5 mg/kg) すると、2 時間後分泌顆粒は枯渇し、5 時間後、新規顆粒が検出される。さらに 8 時間後には分泌顆粒は増大し、細胞膜に VAMP2 が集積してくる。VAMP2 は開口放出に関与することから、顆粒成熟における膜リモデリングは分泌能を獲得するためと考えられるが、その詳細は不明である。そこで本研究では分泌顆粒からリソソームへと輸送されるプロカテプシン B (Pro-CtsB) に注目し、新規生成顆粒の分泌能について検討した。【方法】Iso 投与して 5 時間後のラットから耳下腺を摘出し、実験に用いた。1) 腺房細胞を単離し、1  $\mu$ M Iso, 10 min 刺激による分泌を調べた。Pro-CtsB と成熟 CstB は抗カテプシン抗体によるイムノプロットで検出し、分子量の違いで同定した。2) 摘出耳下腺を 1  $\mu$ M Iso 刺激前後で固定し、電子顕微鏡像を観察した。3) 耳下腺から分泌顆粒を精製し、内容物を調べた。【結果と考察】耳下腺細胞の Lysate では成熟 CstB が Pro-CtsB より強く検出されたが、精製した新規生成顆粒には Pro-CtsB が検出された。新規生成顆粒を誘導した耳下腺腺房細胞では Pro-CtsB が刺激依存的に分泌された。電子顕微鏡観察により小さい新規生成顆粒が 1  $\mu$ M Iso 刺激後に細胞から消失していた。成熟 CstB の検出は細胞損傷を反映するため Pro-CtsB の検出は開口放出によると考えられ、Iso を腹腔内投与して 5 時間後に検出される新規生成顆粒は、膜リモデリング前にすでに分泌能を獲得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。

---

### Secretory potential of newly-formed secretory granules in rat parotid acinar cells using pro-cathepsin B

---

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

Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

---

A parotid acinar cell has secretory granules (SGs). After injection of isoproterenol (5 mg/kg) into rat abdominal cavity, SGs are completely released from acinar cells at 2 hours. SGs begin to regenerate at 5 hours. And then the SGs undergo membrane remodeling to mature within 8 hours after injection. VAMP2, which involves in exocytosis, enriches in the granule membrane after SG maturation. Therefore, it is considered that the membrane remodeling of SGs is prepared for the exocytosis, but detail of process remains unknown. In this study, we examined whether newly-formed SGs have a function of exocytosis before membrane remodeling. Parotid acinar cells were isolated by digestion with collagenase. After stimulation of acinar cells with isoproterenol, secretion of pro-cathepsin B was detected by immune blotting. SGs was purified by Percoll density centrifugation. For morphological observation, we used an electron microscope. We detected pro-cathepsin B in purified newly-formed SGs. Acinar cells with newly-formed SGs released pro-cathepsin B after stimulation with isoproterenol. By morphological observation, newly-formed SGs were disappeared after stimulation. Secretion of pro-cathepsin B results from exocytosis of newly-formed SGs, suggesting that newly-formed SGs have an ability of secretion before membrane remodeling.

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

---

### 3-PG13 米摂取がラット盲腸短鎖脂肪酸濃度と唾液中 IgA レベルに与える影響の解析

○山本 裕子<sup>1</sup>, 猿田 樹理<sup>2</sup>, 坂口和歌子<sup>3</sup>, 東 雅啓<sup>4</sup>, 槻木 恵一<sup>3</sup>

<sup>1</sup>神歯大 短大 歯科衛生, <sup>2</sup>神歯大 教育企画, <sup>3</sup>神歯大 病理・組織 環境病理, <sup>4</sup>神歯大 解剖 口腔解剖

【目的】我々は、難消化性糖類摂取により盲腸で産生された短鎖脂肪酸 (SCFAs) が唾液中 IgA 分泌速度を増加させる可能性を明らかにしてきた。日本人の主食である米は、炊飯により  $\beta$  化でんぷんが  $\alpha$  化し、時間経過で再度  $\beta$  化する。 $\beta$  化でんぷんはレジスタントスターチ (難消化性でんぷん) であり、大腸の SCFAs と唾液中 IgA レベルを増加させる可能性があるが、明らかになっていない。本研究では  $\alpha$  化米粉と  $\beta$  化米粉の配合比率の違いが大腸の SCFAs 濃度と唾液中 IgA レベルに与える影響を明らかにすることを目的とした。【方法】AIN76 のコーンスターチ 15% とセルロース 5.0% をグラニュー糖に置換した無繊維飼料をコントロールとし、 $\alpha$  化米粉と  $\beta$  化米粉の添加量を変えて 5 種 ( $\alpha$ 100%,  $\alpha$ 75 $\beta$ 25%,  $\alpha$ 50 $\beta$ 50%,  $\alpha$ 25 $\beta$ 75%,  $\beta$ 100%) の試験飼料を設定した。5 週令ラットを 6 群に振り分け、各飼料を自由摂取させた。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。盲腸内容物中 SCFAs 濃度はイオン排除高速液体クロマトグラフィーにて測定した。盲腸内容物は菌叢網羅解析を行い、細菌の種類と占有率を評価した。【結果】唾液中 IgA 分泌速度は、コントロール群・ $\alpha$ 100% 群と比較して、 $\alpha$ 75  $\beta$ 25% 群・ $\alpha$ 50  $\beta$ 50% 群・ $\alpha$ 25  $\beta$ 75% 群・ $\beta$ 100% 群では高値が認められた。盲腸内容物中 SCFAs 濃度も同様に、コントロール群・ $\alpha$ 100% 群と比較して、 $\alpha$ 75  $\beta$ 25% 群・ $\alpha$ 50  $\beta$ 50% 群・ $\alpha$ 25  $\beta$ 75% 群・ $\beta$ 100% 群では高値が認められた。盲腸内容物の菌叢網羅解析による門レベルでの菌占有率には群間差が認められた。【考察】 $\alpha$  化でんぷん 75% 以下、 $\beta$  化でんぷん 25% 以上の米を摂取した場合は唾液中 IgA 分泌速度と盲腸内容物中 SCFAs 濃度が高値となる可能性が示された。同じ量の米を摂取しても、 $\alpha$  化・ $\beta$  化でんぷんの摂取割合の違いによって、腸内細菌の割合が変わ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 rice consumption on cecal short chain fatty acids concentration and salivary IgA levels in rats

○Yamamoto Y<sup>1</sup>, Saruta J<sup>2</sup>, Sakaguchi W<sup>3</sup>, To M<sup>4</sup>, Tsukinoki K<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Junior Coll, Kanagawa Dent Univ Sch Dent Hygiene, <sup>2</sup>Dept Educ Plan, Kanagawa Dent Univ, <sup>3</sup>Dept Environment Pathol, Kanagawa Dent Univ, <sup>4</sup>Dept Oral Anat, Kanagawa Dent Univ

Cooking rice converts  $B$ -starch into  $A$ -starch, which is then converted back to  $B$ -starch when the rice cools down.  $B$ -starch is a resistant starch that may increase colonic short chain fatty acids (SCFAs) and salivary IgA levels, however this is not clearly elucidated. The purpose of this study was to determine the effect of different ratios of  $A$ - and  $B$ - rice flours on the concentration of SCFAs in the cecum and on salivary IgA levels. Five-week-old rats were divided into six different groups; the control group was fed a non-fiber diet and other five groups were given diets containing different percentages of  $A$ - and  $B$ - rice flour. After four weeks, cecum tissue, cecal digesta, serum, submandibular gland, and saliva were collected. Higher salivary IgA levels and SCFAs concentrations in cecal digesta were observed in the groups that were given diets containing percentages of 75A:25B, 50A:50B, 25A:75B, and 100%  $B$  groups compared to the control and 100%  $A$  groups. The salivary IgA flow rate and the concentration of SCFAs concentration in cecal digesta may be higher when rice containing less than 75%  $A$ -starch and more than 25%  $B$ -starch, is ingested.

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



---

### 3-PG14 低分子量 G タンパク質 Cdc42 は唾液腺腺房細胞の形成を制御する

---

○設楽 彰子, 長瀬 春奈, 大野 雄太, 柏俣 正典

朝日大 歯 薬理

【目的・背景】障害を受けた唾液腺を再生するため、発生機構の研究が盛んに行われている。しかし唾液を生成する腺房細胞の形成機構には未だ不明な点が多い。本研究では上皮細胞の極性形成に必須である低分子量 G タンパク質・Cdc42 が腺房細胞形成を制御する仕組みを調べたので報告する。【結果】腺房細胞形成過程で *Cdc42* をノックアウト (KO) すると、細胞膜近傍に腺腔側マーカータンパク質であるアクアポリン 5 (AQP5) を含む小胞が集積する (AQP5 クラスター) (第 62 回歯科基礎医学会にて報告)。我々はまず *Cdc42*KO 腺房細胞において、腺腔側膜と同時期に形成される基底側膜および細胞間接着装置の局在を調べた。その結果、基底側膜、密着結合、接着結合のマーカータンパク質が AQP5 クラスター上に集積することがわかった。これらの輸送障害の発生機序を調べるため、*Cdc42*KO 唾液腺において低分子量 G タンパク質である RhoA の活性を調べた。その結果、AQP5 クラスター上で RhoA の局所的活性化が認められた。同様の集積は RhoA の下流分子である mDia1 (アクチン・微小管細胞骨格を制御) や MAP2B (微小管結合タンパク質) でも観察された。【考察】腺腔側膜、基底側膜、細胞間接着装置のタンパク質合成後、それらが極性輸送される過程において、Cdc42 が重要な役割を果たすことが示唆された。低分子量 G タンパク質である Cdc42 と RhoA 間にはクロストークがあり、Cdc42 は RhoA の活性を抑制し、アクチン・微小管細胞骨格の制御を介して腺房細胞の形成を促進すると考えられる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### The small GTPase Cdc42 regulates salivary gland acinus formation

---

○Shitara A, Nagase H, Ohno Y, Kashimata M

Asahi Univ Sch Dent, Dept Dent Pharmacol

To regenerate the damaged salivary gland, many studies have investigated the mechanisms of development, however little is known about the mechanisms of salivary acinus formation. We have previously shown that the RhoGTPase Cdc42, which plays a central role in establishing cell polarity, regulates the establishment of the apical plasma membrane (APM) in submandibular acinar cells (The 62nd JAQB). Here we examined the mechanisms of Cdc42-dependent acinus formation. Cdc42-depletion induced miss-transport of APM marker protein AQP5 into intracellular vesicles that accumulate near the plasma membrane (AQP5 cluster). Immunostaining analysis shows that basolateral, tight junction and adherens junction protein localize into an AQP5 cluster as well. In addition, we found active RhoA and its downstream effector mDia1 and MAP2B localizes onto an AQP5 cluster. These results show that there is crosstalk between Cdc42 and RhoA, and Cdc42 may suppress RhoA activity and promote acinus formation via regulation of the actin-microtubule cytoskeleton.

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

---

---

### 3-PG15 三叉神経知覚核群での c-Fos および p-ERK 誘発における末梢神経損傷の影響

---

○寺山 隆司, 内部 健太

広大院医 顎顔面解剖

---

末梢組織への侵害刺激によって、侵害情報を伝達する脊髄や脳幹の2次ニューロンで c-Fos タンパクの発現や ERK のリン酸化が起こることが示されている。本研究ではラット舌背へのカプサイシン塗布による三叉神経知覚核群各部位での c-Fos タンパクおよびリン酸化型 ERK (p-ERK) の誘発における舌神経あるいは下歯槽神経損傷の影響を検討した。手術を伴わないラットあるいは各神経損傷手術に対する擬似手術を施したラット舌背へのカプサイシン塗布によって多くの c-Fos および p-ERK 陽性細胞が三叉神経脊髄路核尾側亜核で両側性に誘発された。舌背へのカプサイシン塗布により、三叉神経脊髄路核吻側亜核においても数は少ないながらも c-Fos および p-ERK 陽性細胞の誘発が両側性に認められた。舌神経損傷後 14 日において、神経損傷側の尾側亜核でカプサイシン塗布による c-Fos および p-ERK 陽性細胞数の有意な減少が認められた。下歯槽神経損傷後 14 日において、神経損傷側の尾側亜核でカプサイシン塗布による c-Fos 陽性細胞数の有意な増加が認められたが、p-ERK 陽性細胞数に変化は認められなかった。舌神経あるいは下歯槽神経損傷後 14 日において、両側の吻側亜核でカプサイシン塗布による c-Fos および p-ERK 陽性細胞数の有意な増加が認められた。これらの結果から、通常の侵害受容伝達において c-Fos および p-ERK は同様に誘発されるが、神経損傷後の侵害受容伝達では両者の誘発に相違が認められることが明らかとなり、三叉神経知覚核群での c-Fos および p-ERK 誘発における各神経損傷の異なる影響は神経障害性疼痛症状の複雑性に関与している可能性が考えられた。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Effects of peripheral nerve injury on the induction of c-Fos and phosphorylated ERK in the trigeminal sensory nuclear complex

---

○Terayama R, Uchibe K

Dept Maxillofac Anat & Neurosci, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci

---

The induction of c-Fos and phosphorylated ERK (p-ERK) following capsaicin application to the dorsal surface of the tongue was investigated in the trigeminal sensory nuclear complex (TSNC) after lingual or inferior alveolar nerve injury. Capsaicin application induced abundant c-Fos and p-ERK protein-like immunoreactive (c-Fos- and p-ERK-LI) neurons in the subnucleus caudalis (Vc) of the spinal trigeminal tract nucleus in intact and sham-operated animals. Capsaicin also induced a limited number of c-Fos- and p-ERK-LI neurons in the subnucleus oralis (Vo) of the spinal trigeminal tract nucleus in intact and sham-operated animals. A significant decrease in capsaicin-induced c-Fos- and p-ERK-LI neurons was noted in the Vc ipsilateral to the injury 14 days after lingual nerve injury. Fourteen days after inferior alveolar nerve injury, the number of capsaicin-induced c-Fos-LI neurons was significantly increased in the Vc ipsilateral to the injury, while the number of p-ERK-LI neurons remained unchanged. A significant increase in the number of capsaicin-induced c-Fos- and p-ERK-LI neurons was observed in the Vo bilaterally after lingual or inferior alveolar nerve injury. These differential effects of nerve injury on the induction of c-Fos and p-ERK in the Vo and Vc may contribute to the complex nature of neuropathic pain symptoms.

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

---

### 3-PG16 ミクログリアにおける miRNA 発現の性差

○溝上 顕子<sup>1</sup>, 佐野 朋美<sup>2</sup>, 山脇 洋輔<sup>3</sup>, 自見英治郎<sup>1,4</sup>, 兼松 隆<sup>2</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 OBT 研究セ, <sup>2</sup>九大 院歯 口腔機能分子, <sup>3</sup>第一薬大 薬 薬物治療, <sup>4</sup>九大 院歯 口腔細胞工学

アルツハイマー型認知症やパーキンソン病などの神経変性疾患は、加齢にともなって発症頻度が増加する神経難病であるが、その発症・進展には性差があることが知られている。近年、これらの疾患に共通した病態として、脳内の免疫細胞であるミクログリアの活性化と、それに伴う脳内の慢性炎症（神経炎症）がある。ミクログリアの遺伝子発現パターンや性質にも明確な性差があるという報告が相次いでおり、それが神経変性疾患に性差が生じる一因となっている可能性がある。神経変性疾患の発症にはエピジェネティックな過程が寄与していると考えられている。エピジェネティクスの重要な機構のひとつである miRNA は転写後の遺伝子発現調節に関与し、それは脳神経機能調節の全プロセスに及ぶ。そこで本研究では、雌雄のマウスからミクログリアを単離し、miRNA 発現パターンの雌雄差に着目して解析を行った。マイクロアレイ解析の結果、miRNA の発現パターンは雌雄で異なっており、オスで増加している miRNA が多く見られた。これらの miRNA の予測標的遺伝子からパスウェイ解析を行ったところ、脂肪酸代謝経路に関わる遺伝子群が変化していることがわかった。マウスミクログリア由来細胞株 MG6 をテストステロンで刺激すると、いくつかの miRNA の発現が増加し、脂肪酸合成酵素の発現量が抑制された。以上のことから、マウスのミクログリアにおいて miRNA の発現パターンは雌雄で異なっており、その一部はテストステロンによる制御を受けていることが明らかになった。miRNA による脂肪酸代謝関連遺伝子の発現調節がミクログリアの性質の性差を規定する一因となっている可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### Differences in microRNA expression patterns contribute to sexually differential characteristics of microglia

○Mizokami A<sup>1</sup>, Sano T<sup>2</sup>, Yamawaki Y<sup>3</sup>, Jimi E<sup>1,4</sup>, Kanematsu T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>OBT Res Cent, Fac Dent, Kyushu Univ, <sup>2</sup>Dept Cell Biol Aging Sci, & Pharmacol, Fac Dent, Kyushu Univ, <sup>3</sup>Lab Adv Pharmacol, Daiichi Univ Pharm, <sup>4</sup>Lab Mol Cell Biochem, Fac Dent, Kyushu Univ

A large body of epidemiological evidence shows that sex differences highly influence the outcome of neurodegenerative diseases including Alzheimer's disease and Parkinson's disease. Recent studies have found that microglia, primary innate immune cells in the brain, play a key role in the development of neurodegenerative diseases. Sex differences in microglial gene expression and function have been reported in mice, which may contribute to sex-specific pathogenesis of neurodegenerative diseases. Since regulatory roles of microRNAs (miRNAs) are implicated in microglial function, in this study, we focused on sex differences in miRNA expression patterns. We performed miRNA microarray analyses on hippocampal microglia isolated from male and female mice at 8 months of age and found that more miRNAs were enriched in male microglia. Pathway analyses using predicted target genes showed enrichment in fatty acid biosynthesis and fatty acid metabolism pathways. Some of the male-enriched miRNAs were confirmed to be upregulated by testosterone stimulation of the mouse microglial cell line MG6. qPCR analysis demonstrated that expression of predicted target genes related to fatty acid metabolism were downregulated by testosterone stimulation. These results suggest that sexually differential characteristics of microglia is in part influenced by miRNAs that regulate fatty acid metabolism.

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

### 3-PG17 間歇的低酸素負荷が発達期の脳皮質体性感覚野ニューロンの神経活動に及ぼす影響

○豊田 博紀<sup>1</sup>, 早田 敦子<sup>2</sup>, 片桐 綾乃<sup>1</sup>, 山田 雅治<sup>1</sup>, 田熊 一徹<sup>2</sup>, 加藤 隆史<sup>1</sup>

<sup>1</sup>阪大 院歯 口腔生理, <sup>2</sup>阪大 院歯 薬理

[目的] 乳幼児期の各種ストレスは、脳機能発達に影響を及ぼす可能性が示唆されている。しかし、どのような神経メカニズムで発達に影響が生じるかは不明な点が多い。本研究では、脳機能発達に影響を与えることが報告されている間歇的低酸素が、発達期の脳皮質体性感覚野ニューロンの神経活動に及ぼす影響を検討することを目的とした。[方法] 生後14日目のSD雄性仔ラットに7日間の間歇的低酸素負荷（酸素濃度21%-5%, 6分周期, 明期6時間）を施し、間歇的低酸素負荷群とした。コントロール群のラットは、通常の室内気（酸素濃度21%）で飼育した。間歇的低酸素負荷直後（生後21日目）に2群のラットの脳を採取し、ゴルジ染色およびホールセルパッチクランプ記録を行い、間歇的低酸素負荷が脳皮質体性感覚野口腔顔面領域のニューロンのシナプス発達や機能に及ぼす影響を検討した。[結果] ゴルジ染色の結果、間歇的低酸素負荷群の体性感覚野第II/III層ニューロンでは、コントロール群と比べて、一次突起数および総突起長が減少し、スパイン数が増加する傾向が認められた。ホールセルパッチクランプ記録の結果、間歇的低酸素負荷群の体性感覚野第II/III層ニューロンでは、コントロール群に比べて、自発性興奮性シナプス後電流の頻度が増加していた。自発性抑制性シナプス後電流では、2群のラット間に差異は認められなかった。[考察] これらの結果から、発達期において、間歇的低酸素負荷直後には、脳皮質体性感覚野第II/III層ニューロンにシナプス形成異常およびグルタミン酸の放出促進が生じ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 intermittent hypoxia on neural activities in layer II/III pyramidal cells of the somatosensory cortex in developing rats

○Toyoda H<sup>1</sup>, Hayata-Takano A<sup>2</sup>, Katagiri A<sup>1</sup>, Yamada M<sup>1</sup>, Takuma K<sup>2</sup>, Kato T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Pharmacol, Osaka Univ Grad Sch Dent

[Purpose] This study aimed to investigate how neural activities in layer II/III pyramidal cells of the somatosensory cortex in developing rats are affected by intermittent hypoxia (IH) which causes impairment of brain function development. [Methods] Male SD rats were exposed to IH (O<sub>2</sub>: 21%-5%; 6 min cycle, 14:00-20:00) from postnatal day 14 (P14) to P20 or to room air. On P21, Golgi staining and whole-cell patch clamp recordings were performed to examine the effects of IH on the synaptic morphology and function. [Results] Golgi staining revealed that primary dendrite number and total dendrite length were reduced, and spine number seemed to be increased in IH rats compared with the control. Whole-cell patch-clamp recordings revealed that the frequency of spontaneous excitatory postsynaptic currents was increased in IH rats compared with the control, although that of spontaneous inhibitory postsynaptic currents was not different between control and IH rats. [Discussion] These data suggest that IH during P14 to P20 may cause abnormal synapse formation and enhancement of excitatory synaptic transmission in layer II/III pyramidal cells of the somatosensory cortex in developing rats.

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



---

### 3-PG18 根管洗浄液である次亜塩素酸ナトリウムによる味覚抑制は濃度依存的か？

---

○山崎 真帆<sup>1</sup>, 田中 雅士<sup>1</sup>, 裕 哲崇<sup>2</sup>, 河野 哲<sup>1</sup>

<sup>1</sup>朝日大 歯 口腔機能修復 歯科保存, <sup>2</sup>朝日大 歯 口腔機能修復 口腔生理

---

【目的】昨年度の本大会で、根管洗浄液が味覚器に作用した場合、その味覚応答がどのように変化するかを調べ、歯科臨床で用いられることが多い濃度である3.0%のEDTA溶液では、その応答に変化を生じさせなかったものの、3.0%の次亜塩素酸ナトリウム溶液では、4基本味いずれに対しても味質非特異的にラットの味覚神経である鼓索神経応答を抑制することを報告した。そこで本大会では、この次亜塩素酸ナトリウム溶液による鼓索神経応答抑制が、その濃度に依存するかどうか、および、その抑制の程度が味質によって異なるかどうかをラットを用いた電気生理学的手法により検討した。【方法】実験には雄性Wistar/STラット(8~9週齢, n=9)を用い、0.03%, 0.3%, 1.0%, 2.0%の次亜塩素酸ナトリウム溶液を舌に1分間3ml作用させた前後での4基本味溶液(0.1M塩化ナトリウム, 0.5Mシヨ糖, 10mM塩酸, 0.02M塩酸キニーネ)に対する鼓索神経束応答の変化を通法により記録し検討した。【結果と考察】塩化ナトリウムと塩酸では、0.3%以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液の舌処理で処理前より有意な鼓索神経応答抑制が認められたが、シヨ糖と塩酸キニーネでは、1.0%以上で有意な抑制が認められた。また、抑制率は塩化ナトリウムで65.4%、塩酸は51.9%、シヨ糖は40.1%、塩酸キニーネは21.4%であり、味質間で違いが認められた。このことから、一般的に歯科臨床で用いる濃度での次亜塩素酸ナトリウムの味覚応答抑制は、味質に関わらず非特異的に生じるものの、低濃度領域での抑制効果は、味質によりバリエーションが存在することを明らかにした。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Does the suppression of taste responses elicited by sodium hypochlorite, as a root canal irrigation solution, depend on its concentration?

---

○Yamazaki M<sup>1</sup>, Tanaka M<sup>1</sup>, Sako N<sup>2</sup>, Kawano S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Endodont, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent

---

Our previous presentation demonstrated that 3.0% sodium hypochlorite solution, as a root canal irrigation solution, suppressed the chorda tympani response to the four basic taste non-specifically in rats. In the present study, therefore, we investigated whether taste suppression depended on the concentration of sodium hypochlorite. As the methods, we recorded and compared the whole chorda tympani nerve responses of male Wistar/ST rats (8-9w; n=9) to 4 basic taste stimuli, such as 0.1M NaCl (Na), 0.5M sucrose (S), 10mM HCl (H) and 0.02M quinine hydrochloride (Q), before and after tongue treatment with 0.03%, 0.3%, 1% and 2% sodium hypochlorite solution. The results follow; (1) The concentration of suppression elicited by tongue treatment were 0.3% for Na and H, and 1.0% for S and Q. (2) Their suppression rate 65.4%, 51.9%, 40.1% and 21.4% for Na, H, S and Q, respectively.

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

---

### 3-PG19 扁桃体中心核の活性化は味覚嫌悪学習による嫌悪を減弱し、接近行動を増加させる

○乾 賢<sup>1</sup>, 菊池 媛美<sup>1,2</sup>, 船橋 誠<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北大 院歯 口腔生理, <sup>2</sup>北大 院歯 歯科矯正

味覚嫌悪学習は味覚情報と内臓感覚情報が連合することで成立する。扁桃体中心核は味覚情報と内臓感覚情報の両方を受け取り、味覚嫌悪学習への関与が示唆されている。しかし、味覚嫌悪学習成立後の味覚刺激への行動反応表出における扁桃体中心核の役割は不明である。そこで、扁桃体中心核の神経活動亢進が味覚刺激のリック行動や接近行動に及ぼす影響を調べた。雄性 C57/BL6 マウス (n=22) の扁桃体中心核ニューロンに興奮性人工受容体 hM3Dq (AAV8-hSyn-hM3Dq-mCherry) を導入した。行動実験装置内で飲水訓練を行い、その後 0.2% サッカリン溶液と 0.3 M 塩化リチウム (2% B.W.) の対呈示による条件づけを行った。全ての個体が味覚嫌悪学習を獲得したことを確認した後、神経活動亢進の影響を調べた。半分のマウス (n=11) には hM3Dq の人工リガンドであるデスクロクロザピン (DCZ; 0.05 mg/kg) を、残りの半分のマウス (n=11) には vehicle を腹腔内投与し、90 分後にサッカリン溶液を呈示した。DCZ 投与群は vehicle 投与群より有意に多くのサッカリン溶液を摂取し、バーストリックのサイズが増大した (それぞれ  $p < 0.05$ )。高頻度リックは 1 秒未満の間隔で持続するリックであり、サイズが大きいほど味溶液の嗜好性が高いことを示す。したがって、DCZ の投与はサッカリン溶液に対する嫌悪を減弱させ、結果的に摂取量が増加したと考えられる。一方、接近行動の分析によって、DCZ 投与群がサッカリン溶液を入れたシリンジに接近する時間は vehicle 投与群より有意に長いことが分かった ( $p < 0.05$ )。これらの結果から、扁桃体中心核ニューロンは味覚刺激に対する嫌悪反応の表出と接近行動を制御することで味覚嫌悪学習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。

#### Activation of the central amygdala decreases disgust and increases approach behavior in conditioned taste aversion

○Inui T<sup>1</sup>, Kikuchi E<sup>1,2</sup>, Funahashi M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Orthodont, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med

Conditioned taste aversion (CTA) is an association learning between a taste as a conditioned stimulus (CS) and visceral malaise. Previous studies have suggested that the CeA is involved in CTA. However, the role of the CeA in the behavioral responses to a CS remains poorly understood. Thus, we investigated the effect of activation of the CeA neurons on licking and approaching behaviors to a CS. An adeno-associated virus (AAV8-hSyn-hM3Dq-mCherry) was microinjected into the CeA in male C57/BL6 mice (n=22). They were conditioned by pairing a 0.2% saccharin (CS) with 0.3 M lithium chloride (2% BW, i.p.). Half of the mice (n=11) received administration of deschloroclozapine (DCZ; 0.05 mg/kg) and another half (n=11) did vehicle (1% DMSO in saline). The CS was presented 90 min after the drug administration. The intake of the CS and the burst size (index of taste palatability) in the DCZ group were significantly larger than those in the vehicle group ( $p < 0.05$ , respectively). The DCZ administration also significantly increased the duration of approaching a syringe containing the CS. These results suggest that the CeA neurons play a role in expressing disgust response and regulating approaching behavior in CTA.

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

---

### 3-PG20 PC-12 細胞において加味逍遙散または加味帰脾湯は WNK-SPAK 経路を介して歯周病菌由来 LPS 処理による KCC2 発現減少を回復させる

---

○大原由紀子<sup>1,2</sup>, 古川 紗圭<sup>1,3</sup>, 五十嵐健人<sup>1</sup>, 野口 和行<sup>3</sup>, 杉村 光隆<sup>2</sup>, 富田 和男<sup>1</sup>, 佐藤 友昭<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鹿大 院医歯 歯科応用薬理, <sup>2</sup>鹿大 院医歯 歯科麻酔全身管理, <sup>3</sup>鹿大 院医歯 歯周病

歯周病原菌 *P. gingivalis* 由来のリポ多糖 (*P. g* LPS) は、歯周病のみならず、精神障害をはじめとした全身疾患の発症に関与することが知られている。我々も、*P. g* LPS が神経系の細胞でその成熟に重要な KCC2 の発現減少を引き起こすことを報告してきた。しかし、その発症に関与する分子機構については不明な点が多い。そこで本研究では、*P. g* LPS による神経機能障害機構の解明を目的とした。NGF 処理時に WNK-SPAK 系が亢進することや、WNK-SPAK 系が KCC2 発現を制御することが報告されていることから、PC-12 細胞を用い、NGF 処理時に *P. g* LPS を投与し、その影響について、WNK の発現及び SPAK のリン酸化を指標として検討した。また、WNK-SPAK 系を負に制御するとの報告がある GSK3 $\beta$  の発現についても *P. g* LPS 処理によりその発現に影響があるか検討した。さらに、*P. g* LPS 投与の前に中枢神経に作用するとされる加味逍遙散、加味帰脾湯、五苓散を細胞に処理し、KCC2 および WNK-SPAK 系への影響を検討した。その結果 *P. g* LPS 処理により KCC2 と WNK、pSPAK の発現が減少し、GSK3 $\beta$  の発現が上昇した。*P. g* LPS 処理による KCC2、WNK、pSPAK の発現減少と GSK3 $\beta$  の発現亢進は、加味逍遙散と加味帰脾湯で回復したが、五苓散では回復しなかった。以上より加味逍遙散および加味帰脾湯は、*P. g* LPS 投与による KCC2 の発現減少を回復させるが、これらは GSK3 $\beta$  に制御される WNK-SPAK の経路を介していることが明らかとなった。従って、加味逍遙散および加味帰脾湯は、神経機能障害に対する治療薬候補となり得ると考えられる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Kamishoyosan and Kamikihito enhance WNK-SPAK signaling and rescue the decreased KCC2 expression by the *P. gingivalis* LPS treatment in PC-12 cells

---

○Oohara Y<sup>1,2</sup>, Furukawa S<sup>1,3</sup>, Igarashi K<sup>1</sup>, Noguchi K<sup>3</sup>, Sugimura M<sup>2</sup>, Tomita K<sup>1</sup>, Sato T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup>Dept Dent Anesthesiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>3</sup>Dept Periodontol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

It has been reported that lipopolysaccharide derived from *Porphyromonas gingivalis* (*P. g* LPS) is involved not only in periodontal disease but also in the systemic diseases such as psychiatric disorders. We have reported that *P. g* LPS causes a decrease of the KCC2 expression, which is important for the neural maturation. However, the detailed molecular mechanism involved in the psychiatric disorders is still unclear. Therefore, we investigated the mechanism of the neural dysfunction by LPS treatment using PC-12 cells. When *P. g* LPS was administrated during the NGF treatment, the KCC2 expression was decreased in PC-12 cells. *P. g* LPS treatment also decreased the WNK and phospho SPAK (pSPAK) expression and enhanced GSK-3 $\beta$  expression that negatively regulates WNK-SPAK signaling. Moreover, when Kamishoyosan or Kamikihito was administrated before *P. g* LPS treatment, the decrease of KCC2, WNK and pSPAK was rescued. Kamishoyosan and Kamikihito treatment also rescued the enhancement of GSK3 $\beta$  expression by *P. g* LPS treatment. These effects were not shown in the Goreisan treatment, which has been reported to act on the central nervous system. These results indicate that Kamishoyosan and Kamikihito are candidates for therapeutic agents for neural dysfunction.

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

---

---

### 3-PG21 閉経後骨粗鬆症モデルマウスの味覚行動の変化

---

○川端 由子<sup>1,2</sup>, 尾池 麻未<sup>3</sup>, 高井 信吾<sup>3</sup>, 岩田 周介<sup>3</sup>, 實松 敬介<sup>3,4</sup>, 重村 憲徳<sup>3,4</sup>, 兼松 隆<sup>2</sup>, 自見英治郎<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔細胞工学, <sup>2</sup>九大 院歯 口腔機能分子, <sup>3</sup>九大 院歯 口腔機能解析, <sup>4</sup>九大 五感応用デバイス研究開発セ, <sup>5</sup>九大 院歯 OBT 研究セ

---

閉経後の女性は、女性ホルモンの欠乏により骨密度が低下する一方で、味覚嗜好性にも変化を生じることが報告されている。味覚は、生理的な栄養・ミネラル需要を反映した摂食行動の調節に重要な役割を果たしており、閉経後の骨カルシウム代謝の異常が末梢の味覚器におけるミネラルやイオンセンシングの変調をきたすことが予想される。本研究では、閉経後骨粗鬆症（卵巣摘出（OVX）による骨量減少）モデルマウスを用いて、電解質の呈する味覚である塩味、酸味、カルシウム味に関する味覚嗜好性解析を行った。

8 週齢 C57BL/6J メスマウスに偽手術（sham）および OVX 後、10 週間通常飼育した。まず、様々な濃度の塩味（塩化ナトリウム、塩化カリウム）、酸味（クエン酸）、カルシウム味（塩化カルシウム）溶液を呈示した時の 10 秒間のリック（舐め）回数を計測した。その結果、塩味および酸味の応答性に変化はなかったが、カルシウム味に対する忌避応答が、sham 群と比較して、OVX 群で有意に増強した。次に、水と各濃度の塩化カルシウム溶液を呈示し選択摂取させる 48 時間 2 瓶選択嗜好試験を行った結果、塩化カルシウム溶液に対する忌避応答に sham 群と OVX 群で差は認められなかった。以上より、閉経後骨粗鬆症モデルマウスはカルシウム味に対する忌避性が増強すること、また、このカルシウム味増強作用は短時間の味溶液に対する応答のみに見られたことから、末梢の味覚器の関与が重要であることが示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### The behavioral taste responses of postmenopausal osteoporosis in mice

---

○Kawabata Y<sup>1,2</sup>, Oike A<sup>3</sup>, Takai S<sup>3</sup>, Iwata S<sup>3</sup>, Sanematsu K<sup>3,4</sup>, Shigemura N<sup>3,4</sup>, Kanematsu T<sup>2</sup>, Jimi E<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Lab Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Cell Biol Aging Sci & Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Oral Neurosci, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>4</sup>R&D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ, <sup>5</sup>OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent

---

Postmenopausal women have bone loss and the changing taste preferences related to estrogen deficiency. Taste plays an important role in regulating feeding behavior that reflects physiological nutritional and mineral demands. It is presumed that abnormal bone calcium metabolism associated with menopause leads to modulation of mineral or ionic sensing in the peripheral taste organs. In this study, we analyzed taste preferences for salty, sour, and calcium taste solutions, using the mice with osteoporosis induced by ovariectomy (OVX). First, the number of 10-second licks to salty (NaCl, KCl), sour (citric acid), and calcium (CaCl<sub>2</sub>) tastes was measured. As a result, only the aversive response to CaCl<sub>2</sub> was significantly enhanced in the OVX group compared to the sham-operated group. Next, 48-hour two-bottle choice preference tests were conducted in which water and each concentration of CaCl<sub>2</sub> were presented. The aversive response to CaCl<sub>2</sub> did not differ between the sham and OVX groups. These results suggest that the postmenopausal osteoporotic mice model have enhanced the aversive response to calcium taste, and the peripheral taste organs might be involved in this effect.

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

---



### 3-PG22 生後発達期における閉口筋・開口筋運動ニューロンの興奮性および抑制性シナプス入力

○中村 史朗<sup>1</sup>, 野口 毅<sup>2</sup>, 梶原 里紗<sup>3</sup>, 中山希世美<sup>1</sup>, 望月 文子<sup>1</sup>, 壇辻 昌典<sup>1</sup>, 井上 富雄<sup>1</sup>

<sup>1</sup>昭大 歯 口腔生理, <sup>2</sup>昭大 歯 スペシャルニーズ口腔医学 口腔リハ, <sup>3</sup>昭大 歯 全身管理 麻酔

【目的】顎筋を支配する三叉神経運動ニューロンは興奮性および抑制性シナプス入力を受ける。これらの入力、吸啜から咀嚼へ変わる生後発達期にどのように変化するのか、またこの発達様式は運動ニューロンの種類によって異なるのか、未だ不明である。本研究では、生後発達期ラットの咬筋および顎二腹筋を支配する運動ニューロンに誘発される微小興奮性シナプス後電流 (mEPSC) および抑制性シナプス後電流 (mIPSC) の生後変化を両運動ニューロン間で比較・解析した。【方法】生後 2~5, 9~12, 14~17 日齢の Wistar 系ラットを実験に用いた。麻酔下にて脳幹スライス標本を作成した後、咬筋および顎二腹筋運動ニューロンからホールセルパッチクランプを行い、mEPSC および mIPSC を記録した。【結果】non-NMDA 型 mEPSC は、両運動ニューロンとも生後発達期に変化はみられなかったが、NMDA 型 mEPSC の振幅と発生頻度は生後 2~5 日齢の咬筋運動ニューロンで最も高かった。グリシン性 mIPSC の振幅と発生頻度は、両運動ニューロンとも生後発達に伴い著しく増加したが、全ての日齢群で両運動ニューロン間に差がみられた。一方、咬筋運動ニューロンの GABA 性 mIPSC の発生頻度は生後 2~5 日齢で最も高かったのに対し、顎二腹筋運動ニューロンの GABA 性 IPSC はすべての日齢群を通して差はみられなかった。【考察】以上の結果から、ラット咬筋運動ニューロンへの NMDA 型グルタミン酸性および GABA 性シナプス伝達が生後初期に活発であること、興奮性抑制性シナプス伝達の発育様式が運動ニューロングループ間で異なること、が示された。この相異は、それぞれの運動ニューロンが支配する顎筋の機能の発達期における違いに関連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。

### Motoneuron-specific maturation of excitatory and inhibitory inputs to jaw-closing and jaw-opening motoneurons during postnatal period

○Nakamura S<sup>1</sup>, Noguchi T<sup>2</sup>, Kajiwara R<sup>3</sup>, Nakayama K<sup>1</sup>, Mochizuki A<sup>1</sup>, Dantsuji M<sup>1</sup>, Inoue T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Spec Needs Dent, Div Oral Rehabil Med, Showa Univ Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Peri Oper Med, Div Anesthesiol, Showa Univ Sch Dent

Jaw-closing and jaw-opening motoneurons receive a number of excitatory and inhibitory inputs through the glutamatergic, GABAergic, and glycinergic receptors. The input properties undergo developmental changes as feeding behavior matures. However, detailed developmental pattern of these synaptic inputs is still unclear. Thus, we aimed to explore the characteristics of miniature excitatory postsynaptic currents (mEPSCs) and inhibitory postsynaptic currents (mIPSCs) in rat masseter (jaw-closing) and digastric (jaw-opening) motoneurons during three time windows: postnatal day (P) 2-5, 9-12, and 14-17. The properties of non-NMDA mEPSCs remained unchanged in both motoneurons throughout these periods, whereas NMDA mEPSCs were predominantly observed in P2-5 masseter motoneurons, as compared to P9-12 and P14-17. Glycinergic mIPSCs had increased amplitude and frequency in both motoneurons with age, whereas frequency was markedly higher in masseter than digastric motoneurons at all three age groups. GABAergic mIPSCs were predominant in P2-5 masseter motoneurons in contrast to P9-12 and P14-17, while those in digastric motoneurons remained constant throughout the examined periods. These developmental features of excitatory and inhibitory input characteristics in jaw-closing and -opening motoneurons may be responsible for maturation of neural circuits that control the respective masticatory muscle activities during development of feeding.

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

---

### 3-PG23 マウスにおける頭相インスリン分泌に関与する機構の解析

---

○高盛 充仁, 吉田 竜介

岡大 院医歯薬 口腔生理

頭相インスリン分泌は、糖を経口摂取し、それが胃に到達するまでの間の感覚刺激により生じると考えられる。しかし、どのような感覚情報・機序が頭相インスリン分泌に寄与するかは不明である。そこで本研究は野生型および遺伝子欠損マウスを用い、頭相インスリン分泌に寄与するメカニズムについて調べた。本研究では、C57BL/6(B6)マウスとT1R3-KOマウスを用いた。各マウスをグルコース経口投与群とグルコース胃内投与群に分け、投与前と投与後の血糖値と血漿インスリン値を測定した。また、B6マウスを用い、飲水直後にグルコースを胃内投与した群についても同様に血糖値と血漿インスリン値を測定した。全てのマウスは、8日間水飲みトレーニングを行い、1日自由に餌と水を飲ませた後、12時間の絶食・絶水させ、各群の実験を行った。B6マウス経口投与群の血糖値は、胃内投与群と比較してグルコースの投与後に早い時間でピークに達した。血漿インスリン値は、胃内投与群と比較して経口投与群の方がグルコース投与後に早い段階で急激な増加を示した。このような傾向は、T1R3-KOマウスでも同様で、B6マウスとT1R3-KOマウスとの間に有意な差は認められなかった。これらの結果は、頭相インスリン分泌にはT1R2-T1R3味覚伝達経路は関与しない可能性を示唆する。また、B6マウスの飲水直後にグルコースの胃内投与をした群は、血糖値、血漿インスリン値ともに胃内投与群の結果と類似していた。この結果から、水の経口摂取により生じる感覚刺激も、直接頭相インスリン分泌には関与しない可能性が示された。頭相インスリン分泌が生じるには、糖を口腔より摂取したときに口腔咽頭部で生じる何らかの化学的シグナルが重要であると考えられる。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

#### Analysis of the mechanism contributing to cephalic-phase insulin release in mouse

---

○Takamori M, Yoshida R

Dept Oral Physiol, Grad Sch Med, Dent and Pharma Sci, Okayama Univ

We investigated the mechanism that contributes to cephalic-phase insulin release (CPIR) in mice. We used C57BL/6(B6) mice and T1R3-KO mice. Each type of mouse was divided into two groups, oral glucose intake group and intragastric glucose-administrated group, to measure plasma glucose and insulin levels. We also used another B6 group that received an intragastric administration of glucose immediately after oral ingestion of water. Blood glucose levels in the oral ingestion group of B6 mice reached maximum faster compared to those in the intragastric administrated group. Plasma insulin levels increased more rapidly in the oral ingestion group than in the intragastric administrated group. Similar results were obtained in T1R3-KO mice. These results suggest that the T1R2-T1R3 taste transduction pathway may not be involved in CPIR. Changes in blood glucose and plasma insulin levels in mice with water drinking + intragastric administration of glucose were likely to be similar to the intragastric administrated group. These results suggest that somatosensory information produced by oral intake of water did not contribute to CPIR. We hypothesized that some chemical signals from oral-pharyngeal region which are not mediated by T1R2/T1R3 sweet receptor may be important for CPIR.

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

---

---

### 3-PG24 アデノ随伴ウイルスベクターを用いた、マウス三叉神経脊髄路核から視床に投射するニューロンの特異的標識と光活性化

---

○倉本恵梨子, 岩井 治樹, 山中 淳之, 後藤 哲哉

鹿大 院医歯 形態

三叉神経脊髄路核(SpV)は、頭頸部における侵害刺激の感覚情報を受け、結合腕傍核や視床といった脳領域に伝達することが知られている。SpVから視床へ直接的に投射するニューロンは数が少なく、研究が進んでいない。そこで本研究では、アデノ随伴ウイルスベクター(AAV)を用いて、視床へ投射するSpVニューロンの特異的標識を行い、軸索投射の形態学的解析と、光遺伝学を用いた機能解析を行った。順行性感染するAAV2/5-double floxed-fluorescent proteinsをC57BL/6JマウスのSpVに注入し、さらに、逆行性感染するAAVrg-Creを視床に注入することで、2種類のAAVに共感染したニューロンのみ、すなわちSpVニューロンの中でも視床に投射するニューロンのみを蛍光タンパク質で標識した。SpVニューロンの投射軸索は視床において、主に後内側腹側核(VPM)と後核(Po)に分布した。SpVの尾側亜核と中間亜核のニューロンの投射軸索は、VPMとPoにおいて、一部はオーバーラップするものの、それぞれ異なる領域に分布していた。また、AAV2/1が順行性にシナプスを越えて運ばれることを利用し、AAV2/1-CreをSpVに注入し、さらに、順行性感染するAAV2/5-double floxed-fluorescent proteinsを視床に注入することで、SpVニューロンがシナプス結合する視床ニューロンを蛍光タンパク質で標識した。その結果、主にVPMとPoのニューロンが標識され、大脳皮質の第一次、第二次体性感覚野に投射する軸索が観察された。光活性化チャンネル(ChR2)を発現するAAVをSpVに注入し、473 nmの波長を出すLEDをSpVの直上に慢性的に埋め込んだ。ChR2陽性SpVニューロンを光で興奮させたところ、口唇をぬぐう行動が有意に増加し、痛みを感じていると推測された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Tracing and photostimulation of projection neurons from the mouse spinal trigeminal nucleus to the thalamus using adeno-associated virus vectors

---

○Kuramoto E, Iwai H, Yamanaka A, Goto T

Dept Oral Anat Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent

The spinal trigeminal nucleus (SpV) is known to receive nociceptive information in the orofacial region and transmit it to brain regions such as the parabrachial nucleus and thalamus. SpV neurons projecting to the thalamus are few in number and have been poorly understood. In the present study, we used adeno-associated viral vectors (AAV) to specifically label SpV neurons projecting to the thalamus, and analyzed the morphology and function. By injecting AAV2/5-double floxed-fluorescent proteins into the SpV and AAVrg-Cre into the thalamus of C57BL/6J mice, we selectively labeled SpV neurons projecting to the thalamus. Axons of SpV neurons were distributed mainly in the ventral posteromedial (VPM) and posterior (Po) thalamic nuclei; in the VPM/Po, axons derived from the caudal and interpolar parts of the SpV were distributed in different regions, although some overlap. Next, we injected AAV2/1-Cre into the SpV to achieve anterograde transsynaptic expression of Cre, and AAV2/5-double floxed-fluorescent proteins was injected into the thalamus. As a result, we observed transsynaptic anterograde labeling mainly in the VPM/Po. The labeled axons of VPM/Po neurons were distributed in the primary and secondary somatosensory cortices. Further, we labeled SpV neurons with ChR2 and photoactivated, resulted in significantly increased rubbing behavior of the mice.

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

---

---

### 3-PG25 発生工学的トレーシングにより可視化された扁桃体内側核の苦味経路ニューロンで観察される味覚嫌悪学習後の甘味刺激への反応性変化

---

○杉田 誠

広大院医 口腔生理

---

マウスやヒトでは生得的に甘味刺激に嗜好性反応を示し、苦味刺激に嫌悪性反応を示す。味覚嫌悪・嗜好学習後にはその反応性に変化が生じる。味覚嫌悪学習は実験的には、生得的に嗜好性を示す甘いサッカリン溶液（味覚条件刺激）を飲ませた直後に内臓不快感を生じさせる塩化リチウムを腹腔内投与（無条件刺激）することにより、両刺激を連合させる。味覚嫌悪学習後にはサッカリン溶液に嫌悪性反応を呈する。扁桃体基底外側核ニューロンの一部における条件刺激と無条件刺激の情報の統合が、味覚嫌悪学習の獲得に必要なことが示されているが、この情報統合ニューロンとその下流のニューロンがいかなる機能変化を起こし、下流ニューロンに活性化パターンの変化を生じさせ、味覚嫌悪学習を可能にするかは現時点で不明である。本研究では、嫌悪性の苦味を受容する味細胞に選択的に経ニューロン性トレーサー(WGA-DsRed)を発現するトランスジェニックマウスを用い、苦味受容味細胞から移行したWGA-DsRedを受け取る苦味経路ニューロンの扁桃体内の局在を可視化し、味覚嫌悪学習の獲得前後における苦味経路ニューロンの条件刺激・サッカリン溶液に対する応答性を比較した。扁桃体内側核のWGA-DsRedを受け取る苦味経路ニューロンにおいては、味覚嫌悪学習の獲得前に比べ、獲得後にサッカリン刺激により活性化されるニューロンの割合が増加した。またサッカリン刺激により活性化される苦味経路ニューロンの割合の増加は獲得嫌悪の消去学習後にも残存して観察された。発生工学的トレーシングを用い苦味経路ニューロンを可視化特定することにより、扁桃体内側核の苦味経路ニューロン活動の味覚嫌悪学習獲得時の可塑性変化が表出され、その変化は消去学習後も持続することが示唆された。共同研究者：Chieh-Mei Chang（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。

---

### Genetic tracing reveals bitter taste-relaying neurons in the medial amygdala change their responses to sweet stimuli after conditioned taste aversion learning

---

○Sugita M

Dept Physiol Oral Physiol, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci

---

Conditioned taste aversion (CTA) is studied in the experimental model, where an animal tasting saccharin, a novel sweet tastant (conditioned stimulus [CS]), and followed by intraperitoneal injection of lithium chloride that induces illness (unconditioned stimulus [US]) can acquire one-trial learning of CTA to the CS saccharin. The association of CS and US in a subset of neurons in the basolateral amygdala (BLA) leads to acquisition of CTA memory by inducing plastic changes in activities of downstream neurons. However, it remains unknown how the BLA neurons receiving both the CS and US can make their downstream neurons change the responses to the CS. Here we used the transgenic mice that express the transneuronal tracer WGA-DsRed in bitter taste receptor cells to visualize the locations of bitter taste-relaying neurons labeled by WGA-DsRed. We combined the genetic tracing and immunohistochemical analyses to identify the neurons that were activated by oral application of saccharin before and after CTA learning. Immunohistochemical detection of Zif268 induction revealed that the medial amygdala had more bitter taste-relaying neurons activated by saccharin after CTA acquisition, compared with that observed before CTA. The increased ratio of the saccharin-activated neurons among bitter taste-relaying ones remained unchanged after extinction of CTA memory.

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

---



---

### 3-PG26 マウスの舌後方に発現する脂肪酸受容体の嗜好性への関与

---

○安松 啓子

東歯大短大

【目的】 マウスの舌の味覚器には脂肪酸受容体 (CD36, GPR40, GPR120) が発現することが報告されている。また, マウス舌咽神経の単一神経の記録により, うま味応答神経 (M-type) とシヨ糖応答神経 (S-type) の大半がオレイン酸に応答し, その応答に GPR40 と CD36 が関与することを以前報告した。そこで本研究では, 上記の受容体の脂肪酸の嗜好性への関与について行動実験により検討した。【方法】 鼓索神経を切断したマウスが術後回復したのちトレーニングを行い, 23 時間の絶水下で, オレイン酸と CD36, GPR40, GPR120 それぞれのアンタゴニストを混合し, 5 分間の二瓶選択嗜好試験を行った。【結果】 オレイン酸 (10 mM オレイン酸+5%エタノール) と溶媒 (水+5%エタノール) を与えたときのオレイン酸の嗜好率は約 60%, オレイン酸+ CD36 アンタゴニストと溶媒では嗜好率約 40%, オレイン酸+ GPR40 アンタゴニストと溶媒では嗜好率約 40%, オレイン酸+ GPR120 アンタゴニストと溶媒では嗜好率約 70%であった。オレイン酸は溶媒より嗜好率が高く, そのアンタゴニストの添加により嗜好率が減少した。【考察】 以上の結果より, CD36, GPR40 が脂肪酸の嗜好性に関与することが示唆され, 単一神経記録の結果と一致した。一方, GPR120 については嫌悪性の感覚を引き起こす可能性があり, 舌咽神経味覚線維の中に約 7%存在する, 脂肪酸に最も高い応答を示す神経 (F-type) の関与が示唆された。共同研究者: 永井由美子 (東歯大短期大学)

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

### Involvement of fatty acid receptors expressed in mouse posterior tongue in behavioral preference

---

○Yasumatsu K

Tokyo Dent Junior Coll

Fatty acid sensors, CD36, GPR40 and GPR120, have been reported to be expressed in rodents' taste systems in the tongue. And we previously reported that more than a half of M-type (glutamate-best) and S-type (sucrose-best) fibers are also responsive to fatty acids in single fiber recordings of the glossopharyngeal nerve. The present study, therefore, addressed the involvement of fatty acid receptors expressed in mouse posterior tongue in behavioral preference. After transection of the chorda tympani nerve, the mice were given two bottles, one containing vehicle and the other 10 mM oleic acid (OA) with or without an antagonist under a condition of 23 h water deprivation. The fluid intake for 5 min were measured and the preference score were calculated. As the results, the preference scores were 60%, 40%, 40% and 70% for OA, OA with CD36 antagonist, OA with GPR40 antagonist, OA with GPR120 antagonist respectively. These results suggest that CD36 and GPR40 mediate preferable taste of fatty acid, while GPR120 may mediate aversive sensory information of fatty acid.

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

---

---

### 3-PG27 口腔感覚神経節と脳幹における味覚受容体関連遺伝子の発現について

---

○諏訪部 武, 安尾 敏明, 畚 哲崇, 中村 文彦, 高橋 慎平

朝日大 歯 口腔生理

脳神経の三叉神経, 顔面神経, 舌咽神経, 迷走神経は, 口腔, 咽頭, 喉頭からの感覚入力を受け取り, 脳幹の神経核へ感覚情報を伝達する. これらの脳神経の感覚神経節を特徴づけるために, 三叉神経の感覚神経節である三叉神経節, 顔面神経の感覚神経節である膝神経節, 舌咽神経と迷走神経の感覚神経節である錐体/節状神経節および脳幹において, 味覚受容体に関連する遺伝子の発現量を測定し, 発現パターンを比較した. 三叉神経節, 膝神経節, 錐体/節状神経節および脳幹を osteogenic disorder Shionogi (ODS) ラットから採集した. 全 RNA をこれらの感覚神経節と脳幹から抽出し, 逆転写によって RNA テンプレートから cDNA を合成した. 塩味 (ナトリウム味), 甘味および酸味の味覚受容体に関連する遺伝子の発現レベルをリアルタイム PCR によって測定した. 味覚受容体に関連する遺伝子は, 味覚情報を伝達する顔面神経, 舌咽神経, 迷走神経の感覚神経節 (それぞれ膝神経節, 錐体神経節, 節状神経節) および味覚情報の伝導路のある脳幹だけでなく, 口腔体性感覚の情報を伝達する三叉神経の神経節 (三叉神経節) でも発現していた. 味覚受容体に関連する遺伝子の発現レベルはこれらの感覚神経節間で異なっていた. 味覚受容体に関連する遺伝子の発現パターンにはこれらの感覚神経節間で類似性と差異があることから, 味覚受容体に関連する遺伝子の発現パターンはこれらの感覚神経節の特徴の一つであることが示唆される.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

### Expression of taste receptor-related genes in orosensory ganglia and the brainstem

---

○Suwabe T, Yasuo T, Sako N, Nakamura F, Takahashi S

Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent

The cranial nerves V, VII, XI and X receive sensory input from the oral cavity, pharynx and larynx and transmit the sensory information to the brainstem nuclei. To characterize sensory ganglia of the cranial nerves, we investigated expression pattern of taste receptor-related genes in the trigeminal, geniculate, nodose/petrosal ganglia and brainstem. The sensory ganglia were collected from the osteogenic disorder Shionogi (ODS) rats, total RNA was extracted from the ganglia and brainstem, and cDNA was synthesized from the RNA template by reverse transcription. Expression levels of sodium, sweet and sour taste receptor-related genes were determined by real-time PCR. The taste receptor-related genes were expressed in the ganglia and brainstem at different expression levels. There were similarity and difference in expression pattern of the taste receptor-related genes among the ganglia, indicating the gene expression pattern is a one of characteristics of the sensory ganglia.

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

---

---

### 3-PG28 骨髄腫腫瘍進展と骨破壊における ELK1-CIP2A の役割

---

○関 愛子<sup>1,2</sup>, 寺町 順平<sup>1</sup>, 沢 禎彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岡大 院医歯薬 口腔機能解剖, <sup>2</sup>岡大 院医歯薬 麻酔

---

【背景・目的】多発性骨髄腫(MM)は、とりわけ骨に親和性を持ち、骨破壊病変を形成しつつ進展する難治造血器悪性腫瘍である。我々は MM 細胞における細胞内情報伝達系の恒常的な活性化の機序として脱リン酸化酵素 PP2A に着目し、MM 細胞内でその活性が減弱していること、さらに PP2A 内因性阻害因子である CIP2A が MM 細胞特異的に発現しており、CIP2A は MM の生存・増殖のみならず薬剤耐性へも関与していることを明らかとした。しかしながら、CIP2A の発現誘導や骨病変形成における役割は不明である。そこで今回、我々は MM での CIP2A の発現制御と破骨細胞形成における役割について明らかにすることを目的とし以下の検討を行った。【方法・結果】1) CIP2A 発現制御に関わる転写因子 ELK1 は正常末梢血単核細胞ではわずかにしか発現していないが MM 細胞では高発現していた。2) ELK1 の CIP2A プロモーターへの結合を抑制する CIP2A 阻害剤 TD52 は、MM 細胞の CIP2A 発現および MYC や PIM2 など抗アポトーシス因子の発現を抑制し、細胞死を誘導した。また、shRNA による CIP2A ノックダウンでも同様の結果が得られた。3) MM 細胞において TNF- $\alpha$  や IL-6 など腫瘍環境において過剰産生されてる分子により ELK1 の核移行が誘導され、CIP2A 発現を誘導した。4) 破骨細胞において RANKL により ELK1 のリン酸化が惹起され、CIP2A 発現を誘導した。5) TD52 は RANKL による破骨細胞形成を抑制した。【まとめ・考察】MM における CIP2A 高発現は ELK1 により誘導されること、また破骨細胞においても ELK1 により CIP2A 発現が誘導され骨病変形成に関わっていることが示された。以上より ELK1-CIP2A は MM の腫瘍進展・骨病変形成の重要な治療標的となりうることを示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Critical role of ELK1-mediated CIP2A upregulation in tumor growth and bone destruction in myeloma

---

○Seki A<sup>1,2</sup>, Teramachi J<sup>1</sup>, Sawa Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Funct Anat, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup>Dept Dent Anesthesiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

---

Multiple myeloma (MM) is a malignancy of plasma cells, and exclusively expand in the bone marrow and develops extensive bone destruction. We have reported that constitutive activation of cellular signaling is caused by the attenuation of PP2A activity in MM cells. Furthermore, MM cells aberrantly expressed cancerous inhibitor of PP2A (CIP2A) and thereby MM cell growth and survival. Here, we aimed to further clarify the mechanism of CIP2A upregulation and the role of CIP2A in MM-induced osteoclastogenesis. MM cells highly expressed ELK1, the transcription factor involved in the CIP2A expression, while normal quiescent cells did not. Treatment with CIP2A inhibitor TD52 as well as CIP2A knockdown by shRNA suppressed MM cell growth and induced MM cell apoptosis. TNF- $\alpha$  and IL-6 induced ELK1 translocation to nucleus and CIP2A upregulation in MM. RANKL induced ELK1 phosphorylation and thereby CIP2A upregulation during osteoclastogenesis. TD52 suppressed RANKL-induced osteoclastogenesis. These results demonstrated that CIP2A upregulation were induced by ELK1 in both MM cells and osteoclasts which enhances tumor growth and bone destruction in MM, and suggest that ELK1-CIP2A is a pivotal therapeutic target for MM bone disease and tumor progression.

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

---

### 3-PG29 口腔細菌が頭頸部癌細胞株に及ぼす影響と予後との関連性

○西山今日子<sup>1</sup>, 稲葉 裕明<sup>2</sup>, 濱田 正和<sup>1</sup>, 吉田 翔<sup>2</sup>, 仲野 道代<sup>2</sup>

<sup>1</sup>阪大 院歯 口外2, <sup>2</sup>岡大 院医歯薬 小児歯

近年、微生物が発癌機序に深く関与していることが報告されており、胃癌におけるピロリ菌が代表に挙げられる。口腔癌のリスクファクターの1つに、*Porphyromonas gingivalis*をはじめとするいくつかの偏性嫌気性グラム陰性細菌による慢性炎症を伴う歯周病が知られている。本研究では、癌の進展に関係することが報告されている歯周病菌 *Fusobacterium nucleatum* や *P. gingivalis* を感染させた頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC) 細胞株のトランスクリプトーム解析を行い、予後を予測するバイオマーカーの探索を目的とした。*F. nucleatum* もしくは *P. gingivalis* が感染した場合、著明な発現変化を示す上位5%の遺伝子として322遺伝子抽出した。*F. nucleatum* 感染細胞では120遺伝子が上昇し、202遺伝子が減少していた。*P. gingivalis* 感染細胞では160遺伝子が上昇し、162遺伝子が減少していた。さらに *F. nucleatum* もしくは *P. gingivalis* 感染細胞で共通に著明な変化を示す遺伝子として31遺伝子(上昇)、48遺伝子(低下)を特定した。HNSCC患者のThe Cancer Genome Atlas (TCGA) データベースを用い、*F. nucleatum* もしくは *P. gingivalis* 感染細胞で共通して変化を認めた遺伝子発現を調べたところ、CACYR, DHRS2, DLEU7, WISP1, AKAPS, C2orf88, KIAA1456, SLC47A1は、癌組織では正常組織と比較して発現に差を認めた。これら8遺伝子について生存率について詳細に調べたところ、DHRS2高発現群では生存率が低下することが明らかとなった。したがって、DHRS2は、口腔細菌に関連した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 oral bacteria on head and neck cancer cell lines and prognostic association

○Nishiyama K<sup>1</sup>, Inaba H<sup>2</sup>, Hamada M<sup>1</sup>, Yoshida S<sup>2</sup>, Matsumoto-Nakano M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Surg 2, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Pediatr Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

In recent years, microorganisms are deeply involved in carcinogenic mechanisms. *Helicobacter pylori* infection is the strongest known risk factor for gastric cancer. Periodontitis was known as a risk factor for oral cancer, while *Porphyromonas gingivalis*, a major periodontal pathogen, was identified as a specific and potentially independent microbial factor to increase the risk of cancer death. Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) cells were treated with *P. gingivalis* or *Fusobacterium nucleatum*. Then, transcriptome analysis was performed. We extracted 322 genes as the top 5% genes showing marked expression changes in *F. nucleatum* or *P. gingivalis*. In *F. nucleatum* and *P. gingivalis*, 120 and 160 genes were upregulated and 202 and 162 genes were downregulated, respectively. We identified 31 genes (up-regulated) and 48 genes (down-regulated) as common to *F. nucleatum* and *P. gingivalis*. Using the Cancer Genome Atlas (TCGA) database of HNSCC patients, we examined the expression of genes that were found to be altered, CACYR, DHRS2, DLEU7, WISP1, AKAPS, C2orf88, KIAA1456, and LC47A1 were differentially expressed in cancer tissue compared to solid normal tissue. In addition, the survival rate was reduced in patients with high expression of DHRS2. Therefore, DHRS2 may be a molecular prognostic marker in HNSCC patients.

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



---

### 3-PG30 不死化内皮細胞を用いた脈管網オルガノイドゲルによる口腔癌浸潤モデルの検討

---

○工藤 朝雄, 坪崎 健斗, 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】創薬・生理学的研究の分野で発展してきた *in vitro* 脈管モデルは、マイクロ流体デバイスや3Dバイオプリンティングなどの高度技術が基盤となっているためコスト面と汎用性で制限も多い。本研究では、不死化ヒト内皮細胞株と基質混合ゲルを使用したシンプルな脈管網オルガノイドゲルを作製し、脈管網の立体構造と免疫表現型を評価した。口腔癌スフェロイドとの共培養により内皮細胞と口腔癌細胞の相互作用モデルとしての有用性についても検討した。【方法】不死化内皮細胞 (iHDMVEC) と不死化支持細胞 (歯肉由来線維芽細胞, または脂肪組織由来幹細胞) を collagen, fibrin, matrigel で調整した基質混合ゲルに埋入, 内皮細胞用培地で4~7日間培養した。得られたオルガノイドゲル単独, また, 分化度・浸潤能の異なる複数の口腔癌細胞株から作製した癌スフェロイドとの共培養で得た試料を免疫染色に供し, 脈管網の構造や癌スフェロイドとの境界領域を3次元的に観察した。【結果と考察】iHDMVEC オルガノイドゲルでは, Podoplanin 陽性の内皮細胞による管腔構造が観察され, 用いた支持細胞・基質要素と培養日数に応じて網目状構造の構築が認められた。口腔癌スフェロイド単独でのゲル培養では, 癌細胞の挙動はゲル組成に依存するものの, 全方向性に広がる傾向を示した。一方, iHDMVEC オルガノイドゲルと口腔癌スフェロイドの共培養では, オルガノイドゲルへ指向・浸潤する癌細胞が認められ, 各口腔癌細胞株の形質を反映して異なった深達度・浸潤パターンを呈した。本研究の成果として, 不死化細胞株を用いることにより, 比較的短時間で口腔癌浸潤モデルに有用な脈管網オルガノイドを構築できた。本研究はJSPS 科研費 #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。

---

#### ***In vitro* vascular invasion model of oral cancer using immortalized endothelial cell-line**

---

○Kudo T, Tsubosaki K, Hani T, Kawamoto S, Sato K, Taya Y, Soeno Y

Dept Pathol Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo

---

Recent *in vitro* vascular models are based on state-of-the-art technologies like microfluidic devices and 3D bioprinting, and thus include technical restrictions with regard to cost and versatility. In this study, we aimed to establish vascular organoid model suitable for evaluation of interactions between endothelial cells and oral cancer cells. Toward this goal, we cultured an immortalized endothelial cell-line, human dermal microvascular endothelial cells (iHDMVEC), with immortalized supporting cells (human gingival fibroblast or human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells) in hydrogel mixture. We also co-cultured cancer spheroids with the iHDMVEC gels. Histological and immunohistochemical observation revealed that Podoplanin-positive endothelial cells built steric vascular network in the organoid gels around a week according to the culture conditions. In gel culture with oral cancer spheroid alone, the cancer cells were prone to spread in all directions, although dependent on the gel composition. When co-cultured oral cancer spheroids with iHDMVEC organoid gel, cancer cells oriented and infiltrated into the organoid gel, and exhibited different invasion depth and infiltration patterns reflecting the phenotypes of each cell-line used. In summary, we yielded vascular organoid gels by using immortalized cell-lines in a relatively short period, which is useful for oral cancer infiltration model.

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

---

### 3-PG31 腫瘍微小環境における腫瘍随伴マクロファージの制御機構

○佐野 朋美<sup>1</sup>, Du Haiyan<sup>1</sup>, 溝上 顕子<sup>2</sup>, 兼松 隆<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能分子, <sup>2</sup>九大 院歯 OBT 研究セ

【目的】近年、腫瘍微小環境を構成する細胞が注目されており、その中でも腫瘍随伴マクロファージ (tumor-associated macrophage: TAM) は腫瘍の増殖・浸潤・転移などに関わることが知られている。また、腫瘍細胞の増殖や生存には、PI3K-AKT-mTORC1 シグナルが重要であるが、我々はこの経路を抑制的に制御する分子 PLCL (phospholipase C-like protein) について解析している。本研究では、ヒト腫瘍組織における PLCL 発現と腫瘍の転移との関わり、PLCL 発現とマクロファージの TAM 分極制御について検討した。【材料と方法】九州大学医系地区部局臨床研究倫理審査委員会の研究承認を得て (番号: 2020-747)、腎細胞癌組織検体を用い、遠隔転移の有無と腫瘍組織 (腫瘍部と非腫瘍部) の PLCL 発現について検討した。遠隔転移の有無には臨床データを用い、PLCL 発現比較は免疫組織染色後の染色強度測定により検討した。また、野生型 (WT) マウスまたは PLCL (マウスでは Prip) 欠損 (KO) マウスの骨髄細胞をマクロファージへ分化させ、TAM 誘導因子である IL-4, IL-10, IL-13 で刺激した際の TAM マーカー発現について、リアルタイム PCR で検討した。【結果】腫瘍部での PLCL 発現は、遠隔転移症例では、非腫瘍部と比較し顕著に低下していた。一方、転移なし症例では、非腫瘍部と比較した腫瘍部の発現低下は軽度であった。また、マウス骨髄細胞から誘導された TAM の特徴は WT マウスと KO マウスで異なるものであった。【結論】腎細胞癌組織検体を用いた検討の結果から、腫瘍部における PLCL の発現低下と腫瘍の悪性度には相関することが示唆された。症例数を増やしてさらに検討する。また、WT マウスと KO マウスから調整した誘導 TAM の解析から、腫瘍細胞だけでなく TAM における PLCL 発現が腫瘍微小環境を制御し腫瘍の進行や悪性化に関与している可能性を見出した。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

### Regulatory mechanisms of tumor-associated macrophages in the tumor microenvironment

○Sano T<sup>1</sup>, Du H<sup>1</sup>, Mizokami A<sup>2</sup>, Kanematsu T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Cell Biol Aging Sci & Pharmacol, Fac Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>2</sup>OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ

**Purpose** TAMs (tumor-associated macrophages) are macrophages that participate in the formation of the tumor microenvironment, and known to be involved in tumor growth, infiltration, and metastasis. PLCL (phospholipase C-like protein) suppresses the PI3K-AKT-mTORC1 signaling, which negatively regulates tumor cell proliferation and survival. In this study, we investigated PLCL functions in tumor metastasis and TAM polarization. **Materials and Methods** Using human renal cell carcinoma tissue samples, we analyzed correlation between cancer metastasis and PLCL expression in primary tumor tissues with ethical approval (No. 2020-747, Kyushu university). We also analyzed the expression of TAM markers in bone marrow cells-derived TAMs, which were obtained from wild-type (WT) or PLCL (Prip in mice) deficient (KO) mice. **Results** There was a correlation between the expression of PLCL in primary tumors and the ability of tumor metastasis to distant organs. The characteristics of TAMs derived from mouse bone marrow cells were different between WT mice and KO mice. **Conclusion** PLCL expression levels in primary tumor cells and TAMs are involved in tumor progression and malignancy, and regulate the tumor microenvironment. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

---

### 3-PG32 頭頸部扁平上皮癌における染色体パッセンジャー複合体構成因子 Borealin の新たな機能

---

○常松 貴明, 俵 宏彰, 佐藤 真実, 新垣理恵子, 大塚 邦紘, 牛尾 綾,  
石丸 直澄

徳大 院医歯薬 口腔分子病態

染色体パッセンジャー複合体は、細胞周期に進行に重要な役割を果たすことが知られている。染色体パッセンジャー複合体は、その活性中心となる Aurora-B キナーゼ、INCENP、Survivin や Borealin の4つの構成因子よりなる。また、これらの構成因子は頭頸部扁平上皮癌を含めた種々の癌組織において共に過剰発現することが報告されているものの、これらのタンパク質レベルでの過剰発現機構は明らかとなっていない。最近、我々は Borealin が細胞周期依存的に APC/C<sup>Cdh1</sup> (Anaphase Promoting Complex/Cyclosome) を介したユビキチン分解によって、そのタンパク量が制御されることを明らかにした。さらに Aurora-B や Survivin もユビキチン分解を受けることが報告されていることから、本研究では構成因子のいずれかの高発現が引き金となって、その他の構成因子のタンパク質レベルでの安定化をもたらすのではないかと仮説を立て、検討を行った。興味深いことに、Borealin の高発現は Survivin の蓄積を引き起こすことを明らかにした。意外にもその他の構成因子の発現には影響を与えなかった。予想に反して、Borealin の過剰発現によってもたらされた Survivin の蓄積はよく知られた Survivin の機能である細胞周期やアポトーシスの誘導には影響を与えなかった。Borealin の高発現が頭頸部扁平上皮癌の病態にどのような影響を与えるのか検討したところ、Borealin の高発現によって新たな形質を獲得することを見出し、現在その詳細を解析中である。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

#### The novel function of Borealin, which is a component of chromosome passenger complex, in head and neck squamous cell carcinoma

---

○Tsunematsu T, Tawara H, Sato M, Arakaki R, Otsuka K, Ushio A, Ishimaru N

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

Chromosome passenger complex (CPC) plays an important role for mitotic progression. CPC is composed of Aurora-B kinase, INCENP, Survivin and Borealin. It is well known that CPC components are overexpressed in various cancers but the molecular mechanism is still unclear to induce these overexpression in protein level. Therefore, we hypothesized that high expression of a CPC component triggered to stabilize other components. Interestingly, Borealin overexpression stabilized Survivin but not Aurora-B and INCENP. Accumulated survivin by Borealin overexpression did not affect cell cycle and induction of apoptosis. Now, we are investigating the function of overexpressed Borealin in head and neck squamous cell carcinoma.

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

---

### 3-PG33 抗炎症作用を有する新規腫瘍選択的 3-スチリルクロモン誘導体の作用機序

○田沼 靖一, 坂上 宏

明海大 歯科医学総合研

【目的】多くの腫瘍は、炎症性の腫瘍微細環境を形成し、そのニッチで免疫から回避し、増殖進展している。よって、抗腫瘍活性と抗炎症効果を有する化合物は、新たなメカニズムによる制がん剤として期待される。我々は、これまでに papaverine が弱いながらも両活性を有することを報告して来た。In silico 解析の結果、papaverine の類似化合物として chromone 環を有する化合物がヒットした。今回、城西大学薬学部の杉田義昭・高尾浩一教授との共同研究により、約 300 種の類似化合物群の中から、ヒト口腔扁平上皮がん細胞に対して高い腫瘍選択性を示す 3-styrylchromones (3SCs) を見出した。本研究では、その中から抗炎症効果を有する誘導体を同定し、その作用機序を解明することを目的とした。【方法】3SCs の抗炎症効果は、RAW264.7 細胞を用い、HMGB1 処理による IL-6 産生抑制効果を ELISA 法で定量評価した。抗腫瘍効果は、ヒト大腸がん HCT116 細胞を用い、増殖抑制 (NF- $\kappa$ B, AKT), 細胞周期解析 (CDK1), アポトーシス誘導能 (XIAP, IAPs, Bcl-2, Bcl-xL, Bax) などを経験した。さらに、抗炎症/抗腫瘍関連分子の変化については、Western blot で解析した。【結果】3SCs の中で、7-methoxy-3-styrylchromone (C7) は、抗腫瘍活性のみを有するのに対して、7-methoxy-2-hydroxy-3-styrylchromone (C6) は、強い抗炎症効果とともに抗腫瘍活性を有することを見出した。そのメカニズムとして、ERK, AKT の活性化阻害, XIAP, Bcl-xL の発現抑制, Bax の発現促進と caspase 3/7 の活性化を明らかにした。【考察】現在、C6 の標的分子の解明を目指して kinase panel などを用いて解析を進めている。C6 は抗炎症効果と抗腫瘍活性を有する新規クラスの制癌剤開発のリード化合物として期待される。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

### Molecular mechanisms of a novel dual anti-inflammatory and anti-proliferative 3-styrylchromone

○Tanuma S, Sakagami H

Meikai Univ Res Inst Odont

Many tumors generate an inflammatory tumor microenvironment, rapidly proliferating in the niche and escaping from immunity. Therefore, compounds having both antitumor and anti-inflammatory activities can be new class of anticancer agent. Based on our previous finding with papaverine having dual activities, using *in silico* analysis, we discovered that chromone compounds were hit as a mimetic. In collaboration with Professors Yoshiaki Sugita and Koichi Takao, Josai University, among approximately 300 chromone derivatives, 3-styrylchromones (3SCs) were found to exhibit the highest tumor specificity against human oral cancer cells over normal oral cells. In this study, we investigated their anti-inflammatory activity and action mechanism. Inflammation was induced in RAW264.7 cells by HMGB1. IL-6 production was measured by ELISA. Antitumor activity against HCT116 cells was evaluated by WST assay, growth-regulated molecules, cell cycle marker, and apoptosis markers. Among 3SCs, 7-methoxy-3-styrylchromone (C7) was only anti-inflammatory, whereas 7-methoxy-2-hydroxy-3-styrylchromone (C6) showed both anti-tumor and anti-inflammatory. C6 inhibited ERK and AKT, suppressed XIAP and Bcl-xL, upregulated Bax and caspase 3/7. Analysis of C6 target molecules using kinase panel and others is underway. C6 is expected to be a lead compound for development of a novel class of anticancer drugs having dual anti-inflammatory and antitumor activity.

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



### 3-PG34 スギナ抽出物は LPS 誘発歯周炎モデルラットの破骨細胞形成を抑制する

○芝 典江<sup>1</sup>, 古庄 寿子<sup>2</sup>, 高田 隆<sup>2,3</sup>, 清水 梨加<sup>4</sup>, 宮内 睦美<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>広大院医 口腔炎症制御, <sup>2</sup>広大院医 口腔顎顔面病理病態, <sup>3</sup>周南公立大, <sup>4</sup>アース製薬(株) 研究部

**背景・目的** スギナ (学名: *Equisetum arvense*) は、北半球に広く分布し、古くから伝統的な薬草療法に用いられており、抗菌作用、抗炎症作用、抗酸化作用などの様々な作用を有することが報告されている。しかし、歯科領域の疾患に関する作用は殆ど報告されておらず、重大な歯周疾患の一つである歯周炎に関する作用は明確ではない。そこで本研究では、歯周炎の重要な病的変化である歯槽骨破壊に対するスギナ抽出物 (EA) の作用について、LPS 誘発歯周炎モデルラットを用い検討するとともに、その作用機序を明らかにすることを目的とした。

**材料と方法** LPS または LPS/EA 混合物をラットの上顎歯肉溝に局所的に投与し 3 日後の臼歯部の歯周組織を採取した。1) Receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) および Osteoprotegerin (OPG) の発現と 2) 歯槽骨縁に沿って形成される Cathepsin K 陽性の破骨細胞数を免疫組織化学的に解析した。また、3) マウス骨髄間質細胞 (ST2 細胞) を LPS で刺激した際に生じる、破骨細胞形成制御因子の発現に対する EA の影響を Real time PCR 法で解析した。

**結果と考察** 1) LPS 投与群では歯周韌帯における RANKL の発現が上昇し、OPG の発現が減少した一方、LPS/EA 投与群では RANKL の発現上昇が抑制され、LPS 刺激により低下した OPG の発現が回復した。2) Cathepsin K 陽性破骨細胞数は LPS 群で有意に増加し、LPS/EA 群で Control 群と同程度まで有意に減少した。また、3) ST2 細胞を LPS で刺激すると、RANKL、TNF- $\alpha$ 、IL-6 などの破骨細胞形成促進因子の遺伝子発現が上昇した。一方、LPS と EA を同時に添加するとそれらの上昇が抑制された。さらに、LPS 刺激により発現が低下した OPG などの破骨細胞形成抑制因子は、LPS と EA の同時添加により回復することを確認した。

**結論** 本研究より、EA の歯肉溝への局所的投与は、RANKL/OPG 比のバランスを維持し、LPS 誘発歯周炎モデルラットの歯槽骨吸収を抑制することが明らかとなった。

**【利益相反】** 利益相反状態にあります。

### *Equisetum arvense* inhibits osteoclastogenesis in a rat model of LPS-induced periodontitis

○Shiba F<sup>1</sup>, Furusho H<sup>2</sup>, Takata T<sup>2,3</sup>, Shimizu R<sup>4</sup>, Miyauchi M<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Oral Inflamm Regulation, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci, <sup>2</sup>Dept Oral Maxillofac Pathobiol Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci, <sup>3</sup>Shunan Univ, <sup>4</sup>R & D Head Res Lab Earth Co

**Background** *Equisetum arvense* extract (EA) exerts a variety of biological effects, including anti-inflammatory activities. However, there has been no report on the effect of EA on alveolar bone destruction, which is an important characteristic of periodontitis. Here, we investigated the inhibitory effect of EA on the formation of osteoclasts along the alveolar bone margin in LPS-induced periodontitis model of rat.

**Methods** LPS or LPS/EA mixture were topically administered into the gingival sulcus of upper molar area of rats. After 3 days, periodontal tissues of molar area were obtained enblock. Immunohistochemistry for cathepsin K, receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) were performed. Cathepsin K-positive osteoclasts along the alveolar bone margin were counted. EA effects on expression of factors regulating osteoclastogenesis in osteoblasts with LPS-stimulation were also examined.

**Results** Treatment of EA significantly reduced the number of osteoclasts through decreasing RANKL-expression and increasing OPG-expression in periodontal ligament in comparison with LPS group. In vitro study showed that upregulation of TNF- $\alpha$ , IL-6 and RANKL, and downregulation of OPG in osteoblasts with LPS-stimulation were significantly improved by EA-treatment.

**Conclusion** These findings demonstrate that odontogenically applied EA inhibits osteoclastogenesis in LPS-induced periodontitis model of rat via maintaining the balance of RANKL/OPG ratio.

**Conflict of Interest:** The authors declare conflict of interest.

---

### 3-PG35 ヒトとイヌ歯石の組織構造および組成の比較検討

---

○千葉 敏江<sup>1</sup>, 大熊理紗子<sup>2</sup>, 見明 康雄<sup>3</sup>, 三島 弘幸<sup>4</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 電顕, <sup>2</sup>鶴大 歯 生化, <sup>3</sup>鶴大 歯 解剖, <sup>4</sup>鶴大 歯 理工

---

【目的】ヒト歯石に関する研究は比較的詳細に行われているが、動物との比較解剖学的な研究は少ない。本研究は身近にいるイヌとヒト歯石の組織構造と化学組成を比較検討し、その違いを明確にした上で、差異がどのような原因に基づくかを検討することを目的とした。【材料と方法】材料は室内犬3頭から得た歯周病による自然脱落歯に付着した縁上歯石を用いた。歯石試料は10%ホルマリン溶液で固定後、水洗・乾燥し、金属蒸着を施した。試料はSEMで表面と断面を観察し、SEM-EDS分析やEPMA分析を行った。また、試料の一部は超薄切片を作成し、TEMによる電子線回折を行った。得られた結果をもとにヒト縁上歯石の組織構造と化学組成結果(三島ほか:2011)について比較検討を行った。【結果及び考察】イヌの自然脱落歯は全体的に歯石が沈着して変色しており、歯冠から歯根部分まで歯石で覆われていた。分析結果から、イヌ縁上歯石のCa/P比は2.0以上で、ハイドロキシアパタイトの1.67より高く、ヒト縁上歯石のCa/P比より高い値であった。またCaやP以外ではC、O、Sの含有量が多かった。イヌ唾液のpHはヒト唾液のpHに比較してアルカリ性(pH8-8.5)である。またイヌ歯石の形成速度はヒト歯石に比較して早い。唾液成分や歯石形成速度の違い、さらに口腔の微小環境の違いが歯石の組成に反映されていると考察した。ヒト歯石よりCやOが多いことから、無機質ではCO<sub>3</sub>含有アパタイトの存在が考えられた。さらにイヌ歯石の場合、組織構造から有機質の含有量も多いと考えられた。このことはヒト歯石と比較しイヌ歯石が脆弱で有る理由と思われた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Comparative study of tissue structure and composition of human and canine tartar

---

○Chiba T<sup>1</sup>, Chiba-Ohkuma R<sup>2</sup>, Miake Y<sup>3</sup>, Mishima H<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Res Cent Elect Micro, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>3</sup>Dept Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>4</sup>Dept Dent Eng, Tsurumi Univ Sch Dent Med

---

Although detailed studies on human tartar have been conducted, comparative anatomical studies with animals are scarce rare. The purpose of this study was to compare the histological structure and chemical composition of human tartar with that of dogs to investigate the causes the differences. The materials were marginal tartar attached to the deciduous teeth because of periodontal disease obtained from 3 dogs. These samples were observed by SEM, and SEM-EDS and EPMA analyses were conducted. The ultra-thin sections of the samples were prepared and subjected to the electron diffraction by TEM. Based on the results obtained, a comparative study from human marginal dental calculus (Mishima et al.: 2011) was conducted. The Ca/P ratio of canine marginal tartar was higher than 2.0, which was higher than that of hydroxyapatite (1.67) and higher than that of human marginal tartar. Aside from Ca and P, C, O, and S content were higher. The higher C and O content than in human tartar suggested the presence of CO<sub>3</sub>-containing apatite in the inorganic material. Furthermore, the tissue structure suggested that the content of organic matter was also high. This could be the reason why canine tartar is more fragile than human tartar.

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

---

### 3-PG36 卵巣摘出ラットモデルにおけるエストロゲンレベルと歯周病進行の相関関係について—HSP70の増減について—

○天野カオリ<sup>1</sup>, 稲葉啓太郎<sup>2</sup>, 松尾 雅斗<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神歯大 院歯 解剖, <sup>2</sup>神歯大 院歯 微生物

本研究は卵巣摘出ラット OVX を使用し, エストロゲン欠乏環境下で *P. gingivalis* にて歯周炎を惹起させ, 歯肉と舌筋に日常的な刺激を想定してブラッシングを行った場合の歯周炎罹患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. 加えて, 組織が炎症や損傷を負った際, 細胞修復を促進するために増加すると言われる HSP70 タンパクについても観察した. 実験には 8 週齢 OVX 群と偽手術 Sham 群計 30 匹を使用した. 1 週間後, 歯周炎を惹起させるために *P. gingivalis* を使用し 5 ml を 2 週間 2 日おきに計 5 回塗布した. 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 OVX は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 & middot; B エストラジオール (0.1 mg 21day) 皮下埋め込みの 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に専用測定器使用下, 1 分間ブラッシングを行った. 11 週齢ラット体重は OVX 群が Sham 群より平均 18 g 増量し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・舌筋と共に, 唾液腺を摘出した. 試料は通法に従い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, 修復促進タンパクの標識として HSP70 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. また全ての OVX ラットにおいて HSP70 発現は, Sham 群ラットよりも明らかに低値であった. この結果は, エストロゲンの喪失が HSP70 レベルの低下に確実に影響していることが推測できる.

**【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 rats —Expression of HSP70—

○Amano K<sup>1</sup>, Inaba K<sup>2</sup>, Matsuo M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Anat Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Div Microbiol Kanagawa Dent Univ Grad sch

The aim of this study was to observe the level of tissue cell disruption in OVX rats when inflammation such as periodontitis was induced in an estrogen-deficient environment. 30 female rats were used. To induce periodontitis, the *Porphyromonas. gingivalis* (*P. gingivalis*) was used. OVX rats in each group were further divided into three subgroups, regular food, food containing soy isoflavones, and implanted with B Estradiol pellets. After 60 days, the mandibular incisor gingiva and the tongue were brushed with an electric toothbrush for one minute. Three hours after brushing, all rats were perfused. The mandibular and maxilla gum, tongue, and the salivary gland were removed and prepared as frozen sections. *c-fos* and HSP70 antibody was used as the labeling marker for the injured cells. *c-fos* expression was abundantly observed in the injured cells of both gum and tongue muscle cells just below the epithelium in the infected brushing group. HSP70 expression in OVX rats were clearly lower than that in sham rats. The low level of HSP70 expression in the OVX rats compared to the sham group suggests that estrogen loss is directly linked to susceptibility to inflammatory diseases, which in turn lowers the HSP70 level.

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

---

### 3-PG37 歯周組織治癒過程における PTHrP および PTH1 受容体の遺伝子発現

---

○堀部 寛治, 西田 大輔, 中村 浩彰

松歯大 口腔解剖

【目的】副甲状腺ホルモン関連タンパク(parathyroid hormone-related protein: PTHrP)は、PTH と共通の受容体である PTH1 受容体(PTH1R)と結合し、PTH 同様に骨代謝を亢進させる。ホルモンである PTH と異なり、PTHrP は局所で産生され局所で作用する。骨折時、骨膜細胞から産生される PTHrP が骨折治癒を促進させることが報告されている。また、歯根形成時において PTHrP を発現している歯小嚢細胞が、歯根膜、歯槽骨形成に寄与することも報告されている。このことから、我々は PTHrP が歯周組織治癒に関与すると仮説を立て、抜歯窩治癒・歯周炎後の歯周組織再生過程における PTHrP とその受容体 PTH1R 遺伝子の発現変化の解析を行った。【実験方法】抜歯実験：6 週齢マウスの上顎第一臼歯を麻酔下にて抜去し、2, 4, 7 日後に上顎を採取した。歯周炎実験：8 週齢マウスの上顎第二臼歯に絹糸を結紮し、歯周炎の誘導を 1 週間行った。その後、絹糸を除去し 0, 3, 7 日後に上顎を採取した。抜歯窩および歯周炎後歯周組織の治癒過程における PTHrP および PTH1R の遺伝子発現を RNA-Scope 法により経時的観察を行った。【結果】抜歯窩治癒過程において、PTH1R の遺伝子発現は抜歯窩内に浸潤した間葉系細胞、 $\alpha$ -SMA 陽性骨前駆細胞および新生骨表面の骨芽細胞で発現が認められた。一方、PTHrP の遺伝子は抜歯部近傍の粘膜上皮細胞に限局して発現が認められた。歯周炎の治癒過程において、PTH1R 遺伝子は歯槽骨頂部で発現が見られ、経時的な発現細胞数・発現強度の増加が認められた。しかし PTHrP 遺伝子の発現は認められなかった。【考察】これらの結果から、抜歯窩治癒過程において、粘膜上皮由来の PTHrP が PTH1R 発現間葉系細胞の増殖及び骨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。また、歯周炎後の歯槽骨再生過程においても PTH1R の発現が特異的に増加することから、PTH1R signal の活性化は歯周組織再生において有用であ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。

---

#### Gene expression of PTHrP and PTH1R during periodontal tissue healing process

---

○Horibe K, Nishida D, Nakamura H

Dept Oral Anat, Matsumoto Dent Univ

[Object] PTHrP binds to PTH1R, the receptor of PTH, and regulate bone metabolism. PTHrP has been reported to be involved in fracture healing and periodontal tissue development. To clarify the involvement of PTHrP-PTH1R signaling in periodontal tissue healing, we analyzed PTHrP and PTH1R gene expression after tooth extraction or periodontitis. [Methods] After extraction or periodontitis induction in mouse molars, gene expression of PTHrP and PTH1R in the periodontal tissues during the recovery phase was analyzed by in situ hybridization. [Results] PTH1R gene expression increased in number and intensity of positive cells in the socket after tooth extraction and at apex of alveolar bone after periodontitis. PTHrP gene expression after tooth extraction was expressed in epithelial cells near the extraction site, not in the socket. On the other hand, there was no expression of PTHrP in periodontal tissues after periodontitis. [Discussion] PTH1R expression was specifically increased in the socket and at the alveolar bone apex after periodontitis, suggesting that activation of PTH1R signal may be available for alveolar bone regeneration. **Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

---



---

### 3-PG38 リチウムは虚血性細胞死、硝子様変性および破歯細胞出現を抑制することで矯正力による歯根吸収を減少させる

---

○佛坂 齊社<sup>1</sup>, 森石 武史<sup>2</sup>, 佛坂 由可<sup>3</sup>

<sup>1</sup>長大 院医歯薬 矯正, <sup>2</sup>長大 院医歯薬 細胞生物, <sup>3</sup>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いまだ解明できておらず、歯根吸収の予測と回避は難しいのが現状である。最近、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、そのメカニズムは明らかになっていない。本研究では、歯根吸収抑制に働くリチウムのメカニズムとして、歯根膜周囲組織変性の抑制と破歯細胞出現の抑制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）と破歯細胞の発現と歯根吸収の関連を検討した。（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0.64mM/kg 毎日腹腔内投与し、3, 7, 14日目に $\mu$ 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、上顎第一臼歯遠心頬側根歯頸部1/3の近心面を評価し、対照群と比較した。（結果）対照群では、矯正力負荷後14日目で顕著な歯根吸収が認められた。組織学的には、歯根吸収相当部位に、TUNEL陽性細胞が1日目に出現、その後3日目には減少し、同一部位で硝子様変性への移行が認められた。さらに、7日目には同部位に多数の破歯細胞が観察された。また、塩化リチウム投与群では、1日目のTUNEL陽性細胞数、3日目に見られた硝子様変性領域、7日目の破歯細胞数のすべてが減少し、14日目の歯根吸収量も対照群と比較して顕著な減少がみられた。（結論）リチウムは、ラットにおいて、歯根膜細胞の細胞死、硝子様変性、および破歯細胞の出現を抑制し、矯正力による歯根吸収を減少させた。歯根吸収に対するリチウムの作用のさらなる検討により、歯根吸収の予防薬、また、予防法の開発につながる可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Lithium reduces orthodontic root resorption by suppressing ischemic cell death, hyalinization, and odontoclasts formation in rats

---

○Hotokezaka H<sup>1</sup>, Moriishi T<sup>2</sup>, Hotokezaka Y<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Orthod Dentofac Orthop, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, <sup>2</sup>Dept Cell Biol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, <sup>3</sup>Dept Clin Oral Oncol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

**Objectives** Orthodontically induced root resorption (OIRR) is one of the main side effects of orthodontic treatment. However, the mechanism of OIRR has not been elucidated. Recently, lithium has been reported to suppress OIRR in rats. This study examined whether lithium suppresses OIRR via two mechanisms, prevention of hyalinization in periodontal tissue and suppression of odontoclasts. **Materials and Methods** The maxillary first molar of 10 week-old male Wistar rats was moved mesially by a closed-coil spring for 14 days. Lithium chloride (LiCl group) or saline (control group) was administered intraperitoneally daily. Tooth movements were measured using micro-computed tomography. Appearance of cell death, hyalinization, and odontoclasts were evaluated in histological analysis. **Results** OIRR observed on day 14 in the control group was suppressed by LiCl administration. Apoptotic cells observed on day 1 in the compression area were gradually diminished on day 2 and 3, and transformed into hyalinization tissue in control group. LiCl administration suppressed remarkably this cell death and subsequent hyalinization. Also, the appearance of odontoclasts in the compression area observed on day 7 was significantly suppressed by LiCl administration. **Conclusions** Lithium reduces OIRR through the suppression of periodontal ligament cell death, hyalinization, and odontoclasts formation.

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

---

### 3-PG39 抗 IL-17 抗体による歯槽骨吸収抑制効果

○佐藤 武則<sup>1</sup>, 浜田 信城<sup>2</sup>, 半田 慶介<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神歯大 院歯 口腔生化, <sup>2</sup>神歯大 院歯 口腔細菌

**【目的】** インターロイキン(IL)-17 はヘルパー T 細胞から産生され, 歯槽骨吸収に関与する炎症性サイトカインであることが報告されている. 本研究はすでに乾癬の治療に用いられている抗 IL-17 抗体の歯周治療への有効性を検討する目的で, マウス実験的歯周炎モデルを用いて歯槽骨吸収抑制効果を評価し, さらに歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) の増殖抑制効果について *in vitro* で検討した.

**【方法】** 3 週齢 BALB/c 系雄性マウス口腔内に Pg ( $1.2 \times 10^{11}$  CFU/ml) を感染させて実験的歯周炎を誘導した後, 抗 IL-17 抗体を 2 日おきに腹腔内投与した. 感染開始から 30 日後に上顎骨を摘出し, 上顎臼歯部の辺縁歯槽骨吸収量をマイクロ CT 画像上で計測した歯槽骨頂からセメント・エナメル境の距離より評価した. また歯周組織中の好中球浸潤や破骨細胞の出現について病理組織学的検索法により解析した. さらに抗 IL-17 抗体が Pg の増殖に与える影響を検討するため Pg 菌液を抗 IL-17 抗体含有培地に接種後, 経時的にルミノメーターを用いて ATP 活性を測定した.

**【結果と考察】** マウス実験的歯周炎モデルにおいて Pg 感染後に抗 IL-17 抗体を投与すると, Pg 感染群に比べて辺縁歯槽骨吸収量が減少し, 抗体濃度の増加により骨吸収量の減少が認められた. また病理組織学的解析により, 抗 IL-17 抗体投与群では Pg 感染群に比べて歯周組織中の好中球や破骨細胞の減少が認められた. さらに抗 IL-17 抗体は Pg の増殖速度を遅らせ, 培地への Pg 接種開始から 48 時間後では非添加群の 1/4 程度の ATP 量を示した. 以上の結果から本研究で用いた抗 IL-17 抗体は歯周病原細菌 Pg の発育阻害と歯槽骨破壊を抑制することから, 歯周病予防に利用できる可能性が示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

### Inhibitory effect of anti-Interleukin-17-receptor antibody on alveolar bone resorption

○Sato T<sup>1</sup>, Hamada N<sup>2</sup>, Handa K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Biochem, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Oral Microbiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

**Purpose:** Interleukin-17 (IL-17) is one of the inflammatory cytokines on alveolar bone resorption. The present study was evaluated the inhibitory effect of anti-IL17-receptor antibody on mouse experimental periodontitis. In addition, we determined the bacterial growth inhibitory effect of anti-IL-17-receptor antibody against *Porphyromonas gingivalis* (Pg) *in vitro*.

**Materials & Methods:** Three-week-old, male, BALB/c mice were orally infected with Pg. The anti-IL-17-receptor antibody were intraperitoneally administered every two days. Thirty days after the first Pg infection, the maxillary samples were scanned by micro-computed tomography. Alveolar bone resorption was evaluated the distance between cemento-enamel junction and alveolar bone crest. The presences of neutrophils and osteoclasts were analyzed histologically. To determine the influence of anti-IL-17-receptor antibody on Pg growth, Pg was inoculated into the bacterial broth containing its antibody and evaluated the adenosine triphosphate (ATP) activity using a luminometer.

**Results & Conclusion:** The volume of bone resorption was decreased in a concentration-dependent manner by the anti-IL-17-receptor antibody. The number of neutrophils and osteoclasts in periodontal tissue were decreased by its antibody administration. Moreover, the volume of ATP in bacterial broth containing anti-IL-17-receptor antibody showed a quarter of Pg only cultivation. These results suggested that anti-IL-17-receptor antibody prevent from periodontal bacteria and promote the prevention of periodontitis.

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

---

### 3-PG40 ジルコニアのエキシマ紫外線処理が L929 の初期接着に及ぼす影響

---

○明石 良彦, 山本 圭, 中島 啓, 國分 克寿, 下尾 嘉昭, 松坂 賢一  
東歯大 病理

---

【目的】チタンインプラントでは時間経過とともに生物学的老化が生じ、その成功率の低下が問題であった。その解決策として光機能化が知られ、近年ではエキシマ紫外線処理が注目されている。また、ジルコニアはチタンに代わる歯科インプラントシステムに利用され、チタン同様に光機能化に関する報告がされている。しかしながら、ジルコニアのエキシマ紫外線処理に関する材料学的な報告はあるが、細胞の動態に関する報告はみられない。そこで本研究ではジルコニアのエキシマ紫外線処理が L929 の初期接着に与える影響について検索をした。

【実験方法】実験には直径 13 mm, 厚さ 0.5 mm のジルコニアディスクを作製し、鏡面研磨を行い用いた。実験群にはエキシマ紫外線処理を 10 分間施し、対照群には処理を施さなかった。ジルコニアディスクは 3D レーザー顕微鏡で表面粗さを、接触角計で接触角を測定した。各群ともに L929 を  $5.0 \times 10^4/\text{cm}^2$  の密度でジルコニアディスクに播種し、3, 6, 24 時間培養した。接着細胞を回収し、生存率を Cell counting kit-8 を用いて評価し、integrin  $\beta 1$  と Type I collagen の mRNA 発現量を RT-PCR で評価した。また、接着細胞を 4% パラホルムアルデヒドで固定し、3D レーザー顕微鏡を用いて細胞形態学的な検索を行った。

【結果と考察】ジルコニアディスクの表面粗さは実験群と対照群の間に優位な差はみられなかったが、接触角は実験群で優位に低値を示し、ぬれ性の向上が認められた。接着細胞の生存率はすべての時間において対照群で優位に高値を示した。integrin  $\beta 1$  と Type I collagen の mRNA 発現量はともに 6, 24 時間後で実験群が優位に高値を示した。また、細胞形態学的には時間経過とともに紡錘形の細胞が増加し、実験群でやや太いマイクロスパイクを形成し、スパイクが伸長する傾向がみられた。以上の結果から、ジルコニアのエキシマ紫外線処理により L929 の初期接着能が向上したことが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

#### Effect of excimer ultraviolet treatment of zirconia on initial attachment of L929

---

○Akashi Y, Yamamoto K, Nakajima K, Kokubun K, Shimoo Y, Matsuzaka K  
Dept Pathol, Tokyo Dent Coll

---

Zirconia has been used as an alternative dental implant material to titanium. Although there are material reports on photofunctionalization of zirconia by excimer ultraviolet light, there are no reports on cell kinetics. In this study, we investigated the effect of excimer ultraviolet treatment of zirconia on the initial adhesion of L929. Mirror-polished zirconia disks were used for the experiments, and the experimental group was irradiated with excimer UV light while the control group was not. The surface roughness and contact angle of the disks were measured. L929 was cultured on the disks and cell viability and mRNA expression of integrin  $\beta 1$  and type I collagen were evaluated. Cells were also fixed and examined for cell morphology. There was no predominant difference in disc surface roughness, but the contact angle was predominantly lower in the experimental group. Cell viability was significantly higher in the control group. mRNA expression of integrin  $\beta 1$  and type I collagen was higher in the experimental group. Cell morphology showed a trend toward the formation of slightly thicker microspikes and spike elongation in the experimental group. These results suggest that excimer UV treatment of zirconia improves the initial adhesion of L929.

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

---

### 3-PG41 ペルフルオロオクタン酸はマウス ameloblast 様細胞で ROS/ERK signaling を介した細胞死を誘導する

○藤原奈津美<sup>1,2</sup>, 尾崎 和美<sup>1</sup>, 鈴木麻衣子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>徳大 院医歯薬 口腔保健支援, <sup>2</sup>オーガスタ大 ジョージア州立歯学校

ペルフルオロオクタン酸 (PFOA) は人工的にフッ素化された有機化合物で、健康被害の可能性が注目されているが、エナメル質形成への影響については報告されていない。本研究では、マウス ameloblast 様細胞 (ALC) を用いて PFOA の作用を *in vitro* にて検討した。PFOA 処理後 (24 時間)、細胞毒性を MTT assay, Colony formation assay (CFA), Propidium iodide staining で検討した。アポトーシス判定には TUNEL assay を用いた。Western Blotting にて phospho-ERK, cleaved caspase-3 (cCasp3),  $\gamma$ H2AX を検出した。PFOA は濃度依存的に細胞増殖を抑制し (IC50: 500  $\mu$ M), ROS 産生および p-ERK の発現を有意に増加させた。ROS 阻害剤である N-acetyl cysteine (NAC) によって p-ERK が抑制されたことから、PFOA は ROS を介して ERK を活性化したことが示唆された。また、CFA で NAC は PFOA 誘導性の細胞死を回復させたことから、PFOA は ROS を介して細胞死を誘導していた。一方、PFOA は cCasp3 と  $\gamma$ H2AX の発現を増加させアポトーシスを誘導したが、NAC 処理で PFOA による cCasp3 の発現に変化がなかったことから、ROS を介したアポトーシスではないことが示唆された。PFOA 刺激時に RIP1 阻害剤である Necrostatin-1 にてネクロプトーシスを抑制するとコロニー形成能が有意に回復した。これらの結果より、PFOA は ALC に対してアポトーシスとネクロプトーシスによる細胞死を引き起こすことが示唆された。本研究より、PFOA による ALC の細胞死がエナメル質形成に影響を及ぼす可能性が示され、今後さらなる解析が必要である。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### Perfluorooctanoic acid induces cell death via ROS/ERK signaling in mouse ameloblast lineage cells

○Fujiwara N<sup>1,2</sup>, Ozaki K<sup>1</sup>, Suzuki M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Health Care Promo, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, <sup>2</sup>Dept Oral Biol, Dent Coll of Georgia, Augusta Univ

Perfluorooctanoic acid (PFOA) is an artificial fluorinated organic compound that generates increased public attention due to its potential health hazards, however, PFOA effects on amelogenesis are largely unknown. Here we assessed PFOA effects on mouse ameloblast-lineage cells (ALC) *in vitro*. ALC were treated with PFOA with/without N-acetyl cysteine (NAC: ROS inhibitor). Cell proliferation and cell viability were determined by MTT and colony formation assays. Propidium iodide staining was used for identifying dead cells. TUNEL assay was used for apoptosis detection. Phospho-(p-) ERK, apoptosis (cleaved caspase-3), DNA damage ( $\gamma$ H2AX) were quantified by Western blots. PFOA suppressed cell proliferation in a dose-dependent manner (IC50: 500  $\mu$ M) and significantly increased ROS production. PFOA increased p-ERK levels. This was suppressed by NAC, indicating that PFOA activated ERK signaling via ROS. Colony formation assays showed that NAC reversed PFOA-mediated cell death, suggesting that PFOA induced cell death via ROS. PFOA increased cleaved caspase-3 and  $\gamma$ H2AX expression and induced apoptosis, however, these were not associated with ROS. Inhibiting necroptosis in PFOA treatment was reversed cell viability, suggesting that PFOA induced cell death by apoptosis and necroptosis in ALC. This study suggests the potential adverse effects of PFOA-mediated cell death on amelogenesis.

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



### 3-PG42 象牙芽細胞のアデニル酸シクラーゼ活性化は $Zn^{2+}$ 感受性 $Ca^{2+}$ チャネルを介した $Ca^{2+}$ 流入を誘発する

○木村 麻記<sup>1</sup>, 黄地 健仁<sup>1</sup>, 倉島 竜哉<sup>1</sup>, 黒田 英孝<sup>1,2</sup>, 安藤 正之<sup>1</sup>, 河野 恭佑<sup>1</sup>, 野村 幸恵<sup>1</sup>, 澁川 義幸<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東歯大 生理, <sup>2</sup>神歯大 院歯 歯科麻酔

我々はこれまでに反応象牙質形成や象牙質痛の発生に重要である象牙芽細胞内  $Ca^{2+}$  シグナルが細胞内 cAMP レベルにより調節される可能性を見出した。しかしながら、詳細な象牙芽細胞内 cAMP シグナル経路と細胞機能に対する cAMP の役割は不明である。本研究では、象牙芽細胞のアデニル酸シクラーゼ (AC) または  $G_s$  タンパク質共役型受容体である  $\beta_2$  受容体活性化で生じる細胞内 cAMP シグナルと  $Ca^{2+}$  シグナル、両者のクロストークを検討した。細胞内 cAMP レベルは mNeon Green-based cAMP sensor, 細胞内遊離  $Ca^{2+}$  濃度は fura-2 AM を用いて測定した。細胞外  $Ca^{2+}$  存在下で、AC を活性化する forskolin (FSK) または  $\beta_2$  受容体作動薬の isoproterenol (ISO) を投与すると細胞内 cAMP レベルは濃度依存性に増加した。その増加は AC の阻害で有意に抑制されたが、細胞外  $Ca^{2+}$  を除去しても変化しなかった。FSK または ISO の投与は細胞外からの  $Ca^{2+}$  流入を誘発した。FSK 誘発性細胞内 cAMP レベル増加は、transient receptor potential vanilloid subfamily member 1 (TRPV1), TRP ankylin 1 (TRPA1), Piezo1,  $Ca^{2+}$  release-activated  $Ca^{2+}$  (CRAC), 環状ヌクレオチド感受性 (CNG) チャネル, L 型電位依存性  $Ca^{2+}$  チャネル (VGCC) 阻害薬の投与で変化しなかったが、 $Na^+$ - $Ca^{2+}$  交換体 (NCX) 阻害薬の投与で抑制された。FSK 誘発性  $Ca^{2+}$  流入は TRPV1, TRPA1 チャネル, 酸感受性イオンチャネル 3 (ASIC3), NCX 阻害薬の投与で変化しなかったが、Piezo1, CRAC, CNG チャネル, L 型 VGCC 阻害薬の投与で増加し、 $Zn^{2+}$  の投与で抑制された。これらの結果から象牙芽細胞の  $G_s$  タンパク質共役型受容体の活性化は AC の活性化による細胞内 cAMP レベル増加と細胞外からの  $Ca^{2+}$  流入を誘発することが示唆された。AC 活性化で生じた  $Ca^{2+}$  流入は TRPV1, TRPA1, Piezo1, CRAC, CNG チャネル, ASIC3, L 型 VGCC, NCX を介さないこと、 $Zn^{2+}$  感受性  $Ca^{2+}$  チャネルを介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。

#### Adenylyl cyclase activates $Zn^{2+}$ -sensitive $Ca^{2+}$ channels in odontoblasts

○Kimura M<sup>1</sup>, Ouchi T<sup>1</sup>, Kurashima R<sup>1</sup>, Kuroda H<sup>1,2</sup>, Ando M<sup>1</sup>, Kono K<sup>1</sup>, Nomura S<sup>1</sup>, Shibukawa Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup>Dept Dent Anesthesiol, Kanagawa Dent Univ

In the previous study, we reported that intracellular cAMP level may mediate the  $Ca^{2+}$  signaling in odontoblasts which participates in reactionary dentin formation and dentinal pain generation. In this study, we investigated the crosstalk between intracellular  $Ca^{2+}$  and cAMP signaling in human odontoblast (HOB) cells. In the presence of extracellular  $Ca^{2+}$ , forskolin (an adenylyl cyclase (AC) activator) or isoproterenol (an agonist of the beta-2 adrenergic receptors) increased dose-dependently intracellular cAMP level in HOB cells. Forskolin or isoproterenol elicited  $Ca^{2+}$  influx from extracellular medium in HOB cells. Forskolin-induced increases in intracellular cAMP level were not sensitive to antagonists of a TRPV1, TRPA1, Piezo1, cyclic nucleotide-gated (CNG),  $Ca^{2+}$  release-activated  $Ca^{2+}$  (CRAC) channels, and L-type voltage-gated  $Ca^{2+}$  channels (VGCC), and inhibited by a  $Na^+$ - $Ca^{2+}$  exchanger (NCX) inhibitor. Forskolin-induced  $Ca^{2+}$  influx was not sensitive to antagonists of TRPV1 and TRPA1 channels, and acid sensing ion channel 3 (ASIC3), and a NCX inhibitor. The  $Ca^{2+}$  influx was facilitated by antagonists of Piezo1, CRAC, CNG channels, and L-type VGCC, but inhibited by  $Zn^{2+}$ . These results suggested that AC activation induced increase in intracellular cAMP level and  $Ca^{2+}$  influx in odontoblasts. In addition, the  $Ca^{2+}$  influx was increase in intracellular  $Ca^{2+}$  concentration via  $Zn^{2+}$ -sensitive  $Ca^{2+}$  channels.

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

### 3-PG43 ラット臼歯における根分岐部形成過程の3次元、免疫組織学的観察

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

<sup>1</sup>東歯大 組織・発生, <sup>2</sup>東歯大 法歯・法人類, <sup>3</sup>東歯大 解剖

臼歯の根分岐部形態は、Hertwig 上皮鞘が伸長した上皮性根間突起により決定される。上皮性根間突起の成長方向は歯乳頭の細胞増殖が関与すると報告されているが、多根歯形成過程における上皮性根間突起と歯乳頭の相互調節機構は未だ不明である。そこで根分岐部形成における上皮性根間突起の成長機序を解明する一環として、ヒトと同様に島状の象牙質である髓下葉を伴って根分岐部を形成するラット臼歯を用いて上皮性根間突起の発生過程を立体構築すると共に、上皮性根間突起に面する歯乳頭の細胞増殖領域について観察した。生後3~18日齢のWistarラット各3匹の上顎第二臼歯を観察した。4%パラフォルムアルデヒド溶液による灌流固定後、上顎を摘出し浸漬固定を行い、KCXで脱灰後、通法に従ってパラフィン包埋した。厚さ5μmの前頭断連続切片を作製後H-E染色し、一部の試料は抗PCNA抗体による免疫染色を行った。H-E染色切片は40倍で光学顕微鏡写真を撮影した。画像はImageJ(NIH)による二値化処理後、ITKsnapに単色で取込み、5枚おきにHertwig上皮鞘、上皮性根間突起、象牙質根間突起および髓下葉を描出して立体構築を行った。生後3日にHertwig上皮鞘は歯頸部から歯乳頭内部上方に向けて伸長し、上皮性根間突起の形成を開始した。生後8日には、上皮性根間突起は歯乳頭中央部へ水平に伸長した。その際、歯乳頭のHertwig上皮鞘湾曲部に面した部分では抗PCNA抗体陽性細胞が多く確認されたが、根分岐部が完成し根尖への伸長を開始する生後15日には免疫陽性細胞は減少していた。以上の結果から歯乳頭の細胞増殖は根分岐部を形成する上皮性根間突起の成長方向に関与することが示唆された。本研究はJSPS科研費JP17K11629の助成を受けたものです。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### Three-dimensional and immunohistochemical observations of the formation of root bifurcation in molars

○Kikuchi N<sup>1</sup>, Kitamura K<sup>1</sup>, Kasahara N<sup>1</sup>, Ogawa Y<sup>1</sup>, Ishikawa N<sup>2</sup>, Yamamoto M<sup>3</sup>, Abe S<sup>3</sup>,  
Yamamoto H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup>Dept Forensic Odontol Anthropol, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup>Dept Anat, Tokyo Dent Coll

The morphology of root bifurcation is influenced by epithelial projections (EP) that extend from Hertwig's epithelial sheath (HERS). Cell proliferation in the dental papilla contributes to the growth direction of EP. However, the interactions between EP and the dental papilla have not yet been examined in detail. Therefore, rat molars were subjected to three-dimensional and immunohistochemical observations in the present study. Maxillary second molars obtained from Wistar rats on postnatal days 3 to 18 (PN3-18) were embedded in paraffin and serially sectioned at a thickness of 5 μm in the coronal plane. Samples were stained with H-E and some were immunostained with an anti-PCNA antibody. H-E-stained images were captured and the HERS, EP, dentin projections, and subpulpal lobe were depicted using ITKsnap. On PN3, HERS extended towards the inside of the dental papilla and began to form EP. On PN8, EP extended horizontally and active cell proliferation was confirmed in a portion of the dental papilla. However, cell proliferation decreased when the root bifurcation extended to the apex. These results suggest that the proliferation of cells in the dental papilla contributes to the growth direction of EP. This research was supported by a JSPS Grant-in-Aid for Scientific Research JP17K11629.

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

---

### 3-PG44 自己免疫疾患における歯髓感染過程の病理組織学的研究—関節リウマチモデルマウスにおける解析—

---

○山崎 詩織, 石井 信之, 武藤 徳子, 林 玲緒奈, 糸永 和広

神歯大 院歯 歯内療法

[目的]自己免疫疾患である関節リウマチの発症には、歯周疾患等の口腔感染症の関与が報告されているが、歯髓炎との関連性については報告がない。本研究は、関節リウマチモデルマウスにおける歯髓炎の病態を解析し、自己免疫疾患における歯髓損傷過程を明らかにすることを目的とした。[方法]6週齢(雌)のSKGマウス(実験群 n=12)と正常マウス(BALB/cマウス;対照群 n=9)を供試し、歯髓感染モデルを作成した。術後5日,1週間,4週間後に灌流固定後,EDTA脱灰し,HE染色による組織学的解析を行った。また,抗Nestin抗体を用いて象牙芽細胞動態と,TUNEL法によるアポトーシス細胞の動態を解析した。なお,本研究は本学実験動物倫理委員会の承認(21-008)を得ている。[結果および考察]実験群は,術後5日に歯冠部歯髓の炎症反応が強く発現されたが,術後1週では炎症性細胞の浸潤は対照群と同様の所見であった。術後4週の実験群では炎症性細胞浸潤の範囲が広範囲に拡大した。Nestin染色所見では,術後5日に両群共に髓床底から歯根全体に認められ,術後1週は実験群の根尖側1/3にNestin陽性細胞を認めたが,4週では陽性所見が減少した。TUNEL染色では,術後5日,1週において両群共に露髓面直下の歯髓から歯根中央歯髓にかけて陽性細胞が認められた。術後4週間には対照群と比較して実験群の歯根中央歯髓から根尖2/3まで陽性細胞が多く認められた。本研究において,実験群に慢性炎症が持続する傾向が確認され,関節リウマチの発症は歯髓炎を長期化することが示された。

**【利益相反】**利益相反状態にはありません。

---

### Histopathological study of dental pulp infection process in autoimmune diseases—Analysis in rheumatoid arthritis model mice—

---

○Yamazaki S, Ishii N, Mutoh N, Hayashi R, Itonaga K

Dept Endodont Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

Purpose: The purpose of this study was to histopathologically analyze pulpitis in a mouse model of rheumatoid arthritis and to clarify the pulp infection process. Methods: Six-week-old female SKG mice (experimental group) and BALB/c mice (control group) were exposed to establish a pulp infection model. paraffin sections were prepared after 5days, 1week and 4weeks. Then, histological analysis was performed by HE staining, and odontoblast kinetics was analyzed by anti-Nestin antibody and apoptotic cell kinetics by TUNEL staining. RESULTS: In the experimental group, inflammatory cell infiltration was strongly observed in the crown of the tooth after the 5th day, and the inflammatory cell infiltration expanded to the root apex after 4weeks. Nestin-positive cells were observed in 1/3 area of the root apex after 1 week in both groups and decreased after 4weeks. TUNEL-positive cells were observed in the pulp of the crown to the apical 1/3 of the root canal in both groups, and after 4weeks, more TUNEL-positive cells were observed in the root canal of the experimental group than in the control group. CONCLUSIONS: The infected pulp in the experimental group did not rapidly necrosis, and inflammation may have continued, suggesting that the onset of rheumatoid arthritis may prolong pulpitis.

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

---

---

### 3-PG45 象牙質形成および再生過程におけるビタミン D 受容体の局在

---

○佐藤 幸平<sup>1</sup>, 柿澤こころ<sup>2</sup>, 建部 廣明<sup>1</sup>, 細矢 明宏<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北医療大 歯 組織, <sup>2</sup>北医療大 歯 5年

【目的】 活性型ビタミン D3 は、ビタミン D 受容体(VDR)を介して骨代謝に関与することが知られている。本研究では、VDR の象牙芽細胞分化における機能を検討する目的で、歯胚形成ならびに象牙質再生過程における VDR の局在を免疫組織化学的に観察した。【材料と方法】 胎生(E)15日-生後(P)28日齢 Wister 系ラット下顎第一臼歯のパラフィン切片を作製し、VDR, Osterix, 象牙質シアロタンパク(DSP)の局在を、免疫組織化学的に検討した。また、P28 ラット第一臼歯近心面に象牙質窩洞を形成し、1日-10週後に同様の検討を行った。【結果】 蕾状期(E15)および、帽状期(E17)の歯胚内部で VDR の免疫反応は認めなかったが、歯胚周囲の骨芽細胞は陽性であった。象牙質形成が開始された鐘状期(P2)では、将来の咬頭に相当する部位に DSP 陽性の基質を認め、それに接する象牙芽細胞は Osterix 陽性を示した。VDR は象牙芽細胞では陰性であったが、subodontoblastic layer の細胞は陽性であった。歯根形成後(P28)になると、歯髄における VDR 反応は消失した。窩洞形成1日後、窩洞直下の歯髄に壊死が生じ VDR の反応は認められなかった。7日後、窩洞直下の象牙質に接して修復象牙質が形成され、Osterix 陽性の象牙芽細胞が配列した。また、subodontoblastic layer に VDR 陽性細胞が集積していた。10週後になると厚い修復象牙質を認め、象牙芽細胞の丈が低くなるとともに歯髄での VDR 反応は消失した。【考察】 VDR は、活発な象牙質形成が認められる歯髄の subodontoblastic layer の細胞に発現することが明らかとなった。また、その発現は象牙質形成の減弱とともに消失したことから、VDR は象牙質形成を促進的に調節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 Vitamin D receptor during dentin formation and regeneration

---

○Sato K<sup>1</sup>, Kakizawa K<sup>2</sup>, Takebe H<sup>1</sup>, Hosoya A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Histol, Sch Dent Health Sci Univ Hokkaido, <sup>2</sup>5th Grade, Sch Dent Health Sci Univ Hokkaido

1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D3 regulates bone metabolism by binding to the vitamin D receptor (VDR) in osteoblasts. In this study, to analyze the function of VDR in dentin formation, we firstly examine the localization of VDR during rat tooth development. At the bud and cap stages, VDR localization was hardly detected within the tooth germ. At the bell stage, odontoblasts showed intense immunoreactivity for Osterix at the future cusp. These odontoblasts were immunonegative for VDR, but the cells in the subodontoblastic layer facing odontoblasts showed the positive reaction. However, after the root formation stage, these immunoreactivities in the dental pulp decreased in intensity. Next, to examine whether the VDR participates in dentin regeneration, we evaluated the distribution of VDR and Osterix in the dental pulp after cavity preparation. In the coronal pulp chamber of an untreated rat molar, odontoblasts and pulp cells showed no immunoreactivity. At 7 days, odontoblasts forming reparative dentin were immunopositive for Osterix. Cells in the subodontoblastic layer were also positive for VDR at 7 days, whereas this immunoreactivity disappeared after 10 weeks. These results suggested that VDR-positive cells localize in the subodontoblastic layer beneath active odontoblasts and may play a role in dentin formation and regeneration.

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

---



---

### 3-PG46 自己免疫疾患における歯髄感染過程の病理組織学的解析 IgA 腎症モデルマウスにおける解析

---

○林 玲緒奈, 石井 信之, 武藤 徳子, 山崎 詩織, 糸永 和広

神歯大 院歯 歯内療法

【目的】 IgA 腎症の発症や進行には口腔疾患である根尖性歯周炎等の病巣感染症との関連性が報告されている。しかしながら、IgA 腎症の発症メカニズムは不明で治療法も確立されていない。本研究は、免疫複合体型の自己免疫疾患である IgA 腎症における歯髄炎の病態を明らかにすることを目的とした。【材料および方法】 6 週齢雌性の HIGA (IgA 腎症モデル) マウス (実験群 n=12) と BALB/c マウス (対照群 n=9) を使用して歯髄感染モデルを作成した。術後 5 日, 1 週, 4 週後に深麻酔下にて灌流固定後, EDTA 溶液にて脱灰し, パラフィン切片を作成後に組織学的に解析した。さらに抗 Nestin 抗体を用いて象牙芽細胞動態と, Tunel 染色によるアポトーシス細胞の動態を解析した。細胞動態の統計学的解析は, Bell Curve, Japan を使用した。【結果および考察】 実験群, 対照群ともに術後 5 日に露髄面直下に限局した炎症性細胞浸潤を認め, 術後 1 週では歯冠部歯髄に, 術後 4 週では歯根歯髄根尖部まで炎症性細胞浸潤が拡大した。Nestin 染色所見では, 両群ともに術後 5 日で髄床底から歯根 1/3 に陽性細胞が認められ, 術後 1 週では歯根の 1/2 にまで陽性細胞の範囲が拡大したが, 術後 4 週では実験群は陽性細胞が消失した。Tunel 染色所見では, 実験群は術後 5 日に露髄面直下, 術後 1 週で歯根上部歯髄 1/3 に限局した陽性細胞が認められた。術後 4 週の Tunel 陽性細胞は, 対照群と比較し減少することが認められた。本研究結果から, IgA 腎症は IgA 抗体産生過剰に伴う循環障害を特徴とする病態であるが, 歯髄炎の病態においても炎症の長期化に循環障害の影響が関与している可能性が示された。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

#### Histopathological study of dental pulp infection process in autoimmune diseases —Analysis in IgA nephropathy model mice—

---

○Hayashi R, Ishii N, Mutoh N, Yamazaki S, Itonaga K

Dept Endodont Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

Purpose: The purpose of this study was to clarify the histopathology of pulpitis in IgA nephropathy, which is an immune complex type autoimmune disease. Materials & Methods: A pulp infection model was established using HIGA mice (IgA nephropathy;) and BALB/c mice. All mice were histologically analyzed after 5 days, 1 week, 4 weeks. The dynamics of odontoblasts using anti-Nestin antibody and the apoptotic cells by TUNEL staining were analyzed. Results and conclusion: Inflammatory cells localized below the exposed pulp area was observed on 5 days in both groups. Inflammatory cells spread to the root apex area after 4 weeks. Nestin positive cells appeared to 1/2 of the root after 1 week in both groups, and those cells were not observed after 4 weeks in experimental group. TUNEL positive cells were localized in the upper pulp 1/3 of the root of the experimental group below the exposed pulp surface until 1 week. The number of those cells in the control group was found to decrease compared to the experimental group at 4 weeks. The results of this study indicate that IgA nephropathy may also be involved in the prolongation of inflammation in the pathological condition of pulpitis.

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

---

---

### 3-PG47 PEEK 材を用いて開発された歯科用根管拡大装置がスミア層除去に及ぼす影響

---

○侯 亜男, 岡村 友玄, 池田千浦子, 富永 和也

大歯大 歯 口腔病理

---

[背景] 歯内治療では、スミア層の除去は感染を制御するのに重要な項目である。今回我々は、耐久性に優れた樹脂の一つである Poly Ether Ether Ketone (PEEK) を用いて開発された根管拡大装置によるスミア層除去について観察した。[材料と方法] PEEK 材を接続した歯科用根管拡大装置を用いて、ウシ前歯の根管に対して抜髄処置を行い、根管内に 2,000-3,000 Hz の振動を与えた。振動時間は 30 秒と 3 分とした。さらに、3% EDTA 水溶液を併用した場合のスミア層除去効果を観察した。[結果] 30 秒の振動時間では、根管壁の歯質に損傷を認めなかったが、3 分間振動を与えると損傷を認めた。3% EDTA 水溶液非適応で 30 秒の振動時間にとするとスミア層の残留を認めた。一方、3% EDTA 水溶液適応で 30 秒の振動時間ではスミア層が除去されていた。[考察] 30 秒の振動時間で根管内の歯質に損傷を認めなかった。しかし、3 分の振動時間では根管内歯質に微小損傷および象牙質内コラーゲン線維の露出を認めた。3% EDTA 水溶液を適応することでスミア層の除去および象牙質細管の露出が可能となった。そのため、PEEK 材を用いた歯科用根管拡大装置によって歯質を損傷することなくスミア層を除去するには、振動時間を 3 分ではなく 30 秒にすること、3% EDTA 水溶液を併用する方が優れていることが考えられた。[結論] PEEK 材を用いて開発された歯科用根管拡大装置は、振動時間を 30 秒とし、3% EDTA 水溶液を併用することによってスミア層除去に有用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。

---

### Effect of developed dental device for root canal using PEEK material on smear layer removal

---

○Hou YN, Okamura T, Ikeda C, Tominaga K

Dept Oral Pathol, Osaka Dent Univ

---

[Background] In endodontic treatment, removal of the smear layer is an important step in controlling infection. In this study, we observed the removal of the smear layer by a root canal expander developed using Poly Ether Ketone (PEEK), a highly durable resin. [Materials and Methods] The root canal of an anterior bovine tooth was extracted using a dental root canal expander connected with PEEK material, and vibrations of 2,000-3,000 Hz were applied to the root canal. Vibration durations were 30 seconds and 3 minutes. In addition, the effect of removing the smear layer was observed when a 3% EDTA solution was used in combination with the vibrations. [Results and Discussion] It was suggested that a root canal expander using PEEK material to remove the smear layer without damaging the dentin would prove useful if the vibration time was set to 30 seconds instead of 3 minutes and if a 3% EDTA solution was used in combination with the PEEK material. [Conclusion] The gingival root canal expander developed using PEEK material may be useful for removing the smear layer when the vibration time is set to 30 seconds and a 3% EDTA solution is used in combination.

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

---

---

### 3-PG48 架橋型糖化最終産物 (AGEs) と AGEs 阻害薬アラゲブリウムの相互作用の解析.

---

○清水 真人, 杉山 敬多, 高島 葵, 岡田 美佐, 三浦 治郎

阪大 総診

還元糖は生理学的条件下, 非酵素的にタンパク質に結合し, 糖化最終産物 (AGEs) を生成する. AGEs とタンパク質の結合は強固であり, AGEs は結合タンパク質ごと代謝されない限り分解せずに蓄積する. この AGEs の生体内の蓄積が動脈硬化や骨粗鬆症, アルツハイマー型認知症などの疾病, ささまざまな老化現象に関与していると考えられている. 歯科においても糖化による象牙質の強度低下などが報告されている. アラゲブリウムは架橋型の AGEs の形成阻害し, 架橋を切断するアンチエイジング効果をもつ薬物の候補として見出された. *in vivo* ではアラゲブリウム投与によって糖尿病性高血圧の改善などが報告されており, *in vitro* では糖化コラーゲン分子間の架橋構造が分解されることがプロモシアン分解によるペプチドマッピングによって示唆されている. しかしアラゲブリウムが直接的に架橋型 AGEs に作用しているという報告はなくアラゲブリウムの AGEs 架橋の形成阻害, また架橋を分解する詳細なメカニズムは不明である. 本研究ではアラゲブリウムの糖化コラーゲン形成時の阻害効果, 糖化コラーゲンを形成した後での AGEs の分解の効果をウェスタンブロット, HPLC 分析により解析した. その結果, 付加型 AGEs である CML ではアラゲブリウム添加による阻害, 形成後の分解への影響はともに認めなかったが, 架橋型 AGEs のペントシジンに対してはアラゲブリウム共存によってペントシジンの形成が阻害されること, ペントシジン形成後にアラゲブリウムを添加することでコラーゲン中のペントシジンの量が減少していた. 現在, 質量分析等物理化学的な解析を進めている.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

### Analyses of the interaction between crosslinker type of Advanced Glycation End products and the anti-AGEs drug alagebrium

---

○Shimizu M, Sugiyama K, Takashima A, Okada M, Miura J

Div Interdisci Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent

The carbonyl group of reducing sugar binds to amino group of proteins and then is chemically modified by a series of reactions, such as Amadori rearrangement and oxidation. This series of reaction is named Maillard reaction, which occurs irreversibly under physiological condition without any enzyme. The final products of this reaction are called advanced glycation end products (AGEs). Alagebrium is a potent anti-AGEs chemical compound. Clinical reports of positive effects of administration of alagebrium on conditions such as, hypertension due to arteriosclerosis exist in the literature. *In vitro* studies have reported that alagebrium digests AGEs crosslinkers, this was demonstrated by a difference in pattern of peptide mapping of collagen molecules with BrCN digestion. However, direct interaction between AGEs and alagebrium has not been reported. Thus, the present study was undertaken to analyze the direct or indirect interaction of AGEs with alagebrium, using western blot and HPLC analyses. Results showed that alagebrium had no influence on the adduct type of AGEs (carboxymethyl lysine). However, a reduction in crosslink type of AGEs (pentosidine) was noted when alagebrium coexisted during the progress of glycation, or when it was added after glycation. Physicochemical analytic studies using techniques such as mass spectroscopy are in progress.

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

---

### 3-PG49 糖尿病ラットにおける歯髓内血管糖化と阻害法の検討

○岡田 美佐, 清水 真人, 杉山 敬多, 高島 葵, 三浦 治郎

阪大 総診

2型糖尿病はインスリン作用不足による慢性高血糖状態を主徴とする代謝疾患であり、口腔内においては歯周病との関連が報告されている。我々は糖尿病モデルラットにおいて、歯髓内の病的石灰化に着目し、高血糖状態で形成された糖化最終産物：Advanced Glycation End Products（以下、AGEs）が蓄積し、歯髓内では血流障害や細胞障害性の炎症反応が亢進していることを確認した。一方で、AGEs形成に対する阻害剤についても研究が進められており、AGEs架橋分解剤として、アラゲブリウム（N-phenacyl-4, 5-dimethylthiazolium bromide）や、AGEs受容体であるRAGE（receptor for AGEs）を阻害する、RAGE標的薬（FPS-ZM1）が代表的なものとして知られている。今回の研究では、前述のアラゲブリウムを用いて2型糖尿病における歯髓内石灰化への関連の解明とAGEs阻害剤作用が歯髓内石灰化へ与える影響について検討を行った。5週齢～12週齢のSD rat（雄・コントロールラット）、SDT-fatty rat（雄・2型糖尿病ラット）に対して、それぞれ5週齢から4～6週間にわたってAGEs阻害剤投与群、非投与群を設定し、アラゲブリウムの経口投与を行った。ラット顎骨及び腸間膜を摘出し、マイクロCT、走査型電子顕微鏡による形態学的評価、および免疫組織化学的評価を行った。マイクロCTの観察においては、糖尿病ラットにおける歯髓内石灰化の発現が認められたが、薬剤投与群において石灰化発現頻度に関しては大きな差は認められなかった。SEM観察および免疫組織化学的評価から、糖尿病ラットにおける阻害薬投与群の歯髓内血管周囲では、AGEsの一種であるCarboxymethyl Lysineの減少および低酸素マーカーであるHIF-1の発現が抑制されている像が観察された。以上のことから、AGEs架橋分解剤であるアラゲブリウムは、歯髓における石灰化物形成の原因となりうる炎症反応や歯髓内低酸素状態を抑制する可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### Examination of inhibition method for vascular glycation in dental pulp of diabetes rat

○Okada M, Shimizu M, Sugiyama K, Takashima A, Miura J

Div Interdisci Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent

Type 2 diabetes mellitus is a metabolic disease mainly characterized by chronic hyperglycemia and is reportedly associated with periodontal disease. We confirmed that advanced glycation end products (AGEs) accumulated in the pulp of diabetic model rats and enhanced the inflammatory response. Research on inhibitors for AGE formation also reveals that alagebrium chloride (N-phenacyl-4, 5-dimethylthiazolium bromide) is known as a typical AGE-crosslinkage breaker. We investigated pulp calcification and the effect of alagebrium in type 2 diabetes mellitus. We used SD rats (male/control rats) and SDT-fatty rats (male/type 2 diabetic rats) aged between 5 and 12 weeks. After administering alagebrium, the jawbone and mesentery of the rats were excised, and morphological evaluation was performed using micro computed tomography (CT), scanning electron microscopy, and immunohistochemical staining. Pulp calcification was observed in diabetic rats via micro CT. Scanning electron microscopy images and immunohistochemical evaluation revealed the inhibition of AGEs in the pulp and suppression of hypoxia inducible factor-1 around the pulp blood vessels in the alagebrium group. Our findings suggest that alagebrium may inhibit inflammatory reactions and hypoxia in the pulp that may cause pulp calcification.

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



---

### 3-PG50 脱灰したエナメル質に対するブラッシングの影響に関する実験的研究

---

○東理 頼亮<sup>1</sup>, 長谷川 優<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日歯大新潟 病理, <sup>2</sup>日歯大新潟短大 歯科衛生

【緒言】酸に浸食されたエナメル質は物理的損傷を受けやすく、脱灰で脆弱化したエナメル質は日常のブラッシングによりダメージを受ける可能性が高いと考えられる。今回、脱灰したエナメル質に対するブラッシングの影響を経時的に観察・検討した。【試料と方法】試料は、本格的矯正歯科治療に伴い抜歯されたヒト上顎第一小白歯である。エナメル質表面を清掃・研磨後、唇側面に直径6 mmの円状マスキングを施した。トップコートを塗布・乾燥後にマスキングを除去し、直径6 mmの円状にエナメル質表面が露出する状態とした。試料を実験群と対照群に区分し、双方共にスポーツ飲料（アクエリアス；Aquarius, コカ・コーラ社）に浸漬し、露出エナメル質表面の人工脱灰を行った。実験群は、人工脱灰開始から3日目と6日目のブラッシング前後に $\mu$ CT装置（ScanXmate, コムスキャンテクノ, 神奈川）で撮影を行った。対照群はブラッシングを行わずに $\mu$ CT装置による撮影を行った。撮影した画像をもとに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。計測値を実験群と対照群で比較検討した。【結果】実験群の脱灰3日目で、脱灰エナメル質表面の部分的な欠落と深部への損傷の広がりが見られた。6日目では、実験群の脱灰領域が3日目と比較してさらに増加していた。ブラッシング後の損傷領域の変化率を比較すると3日目と比べて6日目では変化率が増加していた。【考察および結論】実験群の脱灰6日目で、ブラッシングによる著しい損傷が見られたのは、脱灰した部分にブラッシングによる損傷が付与されたためと考察する。ゆえに、脱灰エナメル質表面の再石灰化層の損傷を回避するために、口腔内清掃は、スポーツ飲料摂取直後など口腔内が酸性に傾いた状態ではなく、含嗽などで口腔内のpHを整えた後に行うべきであるといえる。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### The influence of tooth brushing on demineralized enamel: an experimental study

---

○Kanri Y<sup>1</sup>, Hasegawa Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Pathol, The Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Niigata, <sup>2</sup>Dept Dent Hygiene, The Nippon Dent Univ Coll at Niigata

This study investigated the influence of tooth brushing on demineralized enamel surfaces. The human premolars extracted for orthodontic treatment were cleaned and polished, and then masking was applied to the labial enamel surface. These samples were divided into an experimental and a control group. The samples of the experimental group were scanned by the micro-CT before and after brushing on days 3 and 6 from the start of artificial demineralization by a sports drink. The samples of control were scanned by the micro-CT on days 3 and 6 without brushing. The micro-CT scanned area was extracted using 3D image analysis software. The surface area and volume were measured on the data of days 3 and 6. The experimental group showed a partial absence of the demineralized enamel surface and spreading damage to deeper areas on day 3, with a further increase in the demineralized area on day 6. The demineralized area after brushing showed an increase in the rate of change on day 6 compared to day 3. To avoid damage to the remineralizing layer of the demineralized enamel surface, it is proposed that oral cleaning should not be performed in acidic conditions immediately after food intake.

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

---

---

### 3-PG51 小臼歯と大臼歯の間に見られる形態形成過程の違い

---

○ハイデル ヤシン<sup>1,2</sup>, 岩井 治樹<sup>2</sup>, 倉本恵梨子<sup>2</sup>, 後藤 哲哉<sup>2</sup>, 中村 典史<sup>1</sup>,  
山中 淳之<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鹿大 院医歯 顎顔面外科, <sup>2</sup>鹿大 院医歯 機能形態

---

#### Differences in morphogenetic process between the premolar and the molar

---

○Haider Y<sup>1,2</sup>, Iwai H<sup>2</sup>, Kuramoto E<sup>2</sup>, Goto T<sup>2</sup>, Nakamura N<sup>1</sup>, Yamanaka A<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup>Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci Dept Anat Oral Sci

---

Purpose: The "pre-molar 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 purposes of this study are to evaluate the "pre-molar analogy theory" from the ontogenetic (developmental) perspective and furthermore to uncover the differences in morphogenesis between premolars and molars.

Materials & Methods: This study 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 morphogenetic processes of the upper canine (C), the upper fourth premolar (P<sup>4</sup>) and the upper first molar (M<sup>1</sup>) in this animal. 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.

Results & Conclusion: In the premolar 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 buccal cusp of the premolar. 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. The premolar lingual cusp and the molar protocone were formed later as the tooth germs grew lingually. These results indicate that the molar morphology is formed ontogenetically by duplicating the premolar morphogenetic process to the distal direction and that the buccal and lingual cusps in the premolar are homologous to the paracone and protocone in the molar, respectively.

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

---

---

### 3-PG52 糖化ゼラチンスポンジによるラット臼歯部への直接覆髄法の評価

---

○杉山 敬多, 清水 真人, 高島 葵, 岡田 美佐, 三浦 治郎  
阪大 総診

生体内においてタンパク質と還元糖の非酵素的糖化修飾により形成される糖化最終産物 (Advanced Glycation End products ; AGEs) は糖尿病をはじめとした代謝性疾患の病態因子である一方で、骨や象牙質などの石灰化物形成に様々な影響を与えることが報告されている。我々は、現在までにコラーゲンの糖化により作製した AGEs が培養歯髄細胞において石灰化を誘導することを明らかにした。本研究では、メカニズムの生体における検証を確認するために、ゼラチンスポンジと DL-glyceraldehyde の糖化反応により作製した糖化ゼラチンスポンジを直接覆髄材として、8 週齢の雄 SD ラットの上顎第一臼歯露髄面に適用した。覆髄後 2 週目、4 週目にラットを屠殺し、上顎骨ごと被験歯を取り出した後、グルタルアルデヒドにて固定し、マイクロ CT 撮影を行った。その後、Block Face Imaging 法を用いた走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察およびパラフィン切片法によるヘマトキシリン・エオジン染色および石灰化関連タンパク質を主体とした免疫組織化学染色を行い、光学顕微鏡観察を行った。結果から、糖化ゼラチンスポンジ群の 4 週目の新生被蓋硬組織は対照群よりも厚く、密度が大きく形成されていた。一方で対照群と比べ、4 週目までの硬組織周囲の細胞の石灰化関連タンパク質の発現は顕著ではなかった。また糖化ゼラチンスポンジ下に形成された硬組織は細管構造が不明瞭な不定形の骨様組織であり、一部、細胞や壊死物質を含む異栄養性石灰化物が認められた。以上より、糖化ゼラチンスポンジは細胞性に分化や遺伝子発現を促進し、石灰化を引き起こすのではなく、異栄養性石灰化に関連した新たな石灰化機序で硬組織を誘導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。

---

### Evaluation of direct pulp capping of rat pulp with glycated gelatin sponge

---

○Sugiyama K, Shimizu M, Takashima A, Okada M, Miura J  
Div Interdisci Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent

Advanced glycation end products (AGEs) are formed through a non-enzymatic reaction between proteins and sugars in the human body. They have been reported to enhance biological calcification and pathological factors of metabolic diseases such as diabetes. We have already shown that glycated collagen-containing AGEs promote calcification on cultured rat dental pulp cells. To further elucidate the mechanism, a glycated gelatin sponge was used as a capping material on maxillary molars of an 8-week-old male SD rat. Rats were sacrificed at 2 or 4 weeks after pulp capping; in addition, specimens were fixed with glutaraldehyde. The quality and quantity of tertiary dentin were evaluated with micro CT analysis, scanning electron microscopy was conducted through ultramicrotomy, and optical microscopy was performed using hematoxylin-eosin staining and immunohistochemical staining by the paraffin section method. In the glycated gelatin group, tertiary dentin was thicker and denser; however, the expression of calcification-related proteins was lower than that in the control group. Calcified tissue formed under the glycated gelatin contained dystrophic calcification with some necrotic cell debris. These results suggest that glycated gelatin sponge containing AGEs may lead to formation of hard tissue through a new calcification mechanism associated with dystrophic calcification.

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

---

---

### 3-PG53 顕微フーリエ変換赤外分光法を用いたフッ化ジアミン銀塗布による象牙質の性状変化の観察

---

○桑田（楠瀬）隆生<sup>1</sup>，渡辺 新<sup>2</sup>，布施 恵<sup>3</sup>，岡田 裕之<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日大松戸歯 教養生物，<sup>2</sup>日大松戸歯 組織，<sup>3</sup>日大松戸歯 教養化学

---

【目的】フッ化ジアミン銀はその塗布によるう蝕抑制効果に加え，う蝕検知薬としての活用も期待されている。しかし，フッ化ジアミン銀塗布により健常な歯質が黒く着色するなどの影響も良く知られており，フッ化ジアミン銀塗布に伴う歯質の性状変化の理解は，その新たな活用法を検討する上で重要と考えられる。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，フッ化ジアミン銀塗布による健常象牙質の性状変化を観察することを試みた。【材料と方法】試料は約 1.0 mm 厚に切断した歯断片とし，micro-FTIR を用い 38% フッ化ジアミン銀（サホライド）塗布前後の健常象牙質の赤外吸収スペクトルを測定した。フッ化ジアミン銀塗布後のスペクトルは，塗布直後，1 時間後，24 時間後，2 週間後に測定を行い，経時的なスペクトル変化の有無も観察した。【結果と考察】フッ化ジアミン銀塗布前後で象牙質の赤外吸収スペクトルを比較すると，塗布によりリン酸の吸収に当たる  $1150\text{ cm}^{-1}$  付近のピークが  $1040\text{ cm}^{-1}$  付近へとシフトしていることが，また，そのピーク形状も時間経過に伴い変化していく様子が観察された。これまでもサホライド塗布後の歯質を FTIR で測定した報告はあるが，この様なピークシフトやピーク形状の変化に注目した報告はない。本研究の成果は，フッ化ジアミン銀塗布によりリン酸などの歯質成分に変化が生じている可能性を示している。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 dentine stained with silver diamine fluoride

---

○Kuwada-Kusunose T<sup>1</sup>，Watanabe A<sup>2</sup>，Fuse M<sup>3</sup>，Okada H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Lib Arts Biol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>2</sup>Dept Histol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>3</sup>Dept Lib Arts Chem, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

---

Recently, several studies have proposed the application of silver diamine fluoride (SDF) in detection of carious dentine. In considering this application, it is important to clarify influence of SDF staining on dental tissue. In this study, we attempted to observe the change of property of dental tissue by SDF staining using micro-FTIR. For the analyses, sections of carious teeth with the thickness of about 1.0 mm were prepared. Using these sections, FTIR spectra of dentine before and after the staining with Saforide (38% SDF; Bee Brand Medico Dental, Osaka, Japan) were collected. The comparison of these FTIR spectra indicated that a peak of the phosphate ion at near  $1150\text{ cm}^{-1}$  shifts to near  $1040\text{ cm}^{-1}$  by SDF staining, suggesting that the SDF staining affected the structure of mineral in dental tissue.

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

---



---

### 3-PG54 RT-MSP を用いた歯由来 DNA のメチル化率に基づく年齢推定

---

○近藤 真啓, 小方 彩乃, 網干 博文

日大 歯 法医

法医学分野における身元不明死体の個人識別を行う上で、年齢の推定は極めて重要である。最近、特定遺伝子の上流における CpG メチル化が年齢依存的に変化することが明らかになり、年齢推定のバイオマーカーの候補として注目されている。そこで今回、リアルタイムメチル化特異的 PCR (RT-MSP) 法を用いて、歯に由来する 2 つの遺伝子のメチル化率を指標とした年齢推定のための回帰モデルの作成を試みた。20-85 歳の日本人の抜去歯からゲノム DNA を抽出し、バイサルファイト処理を行った。そして、*ELOVL2* および *EDARADD* の上流 CpG を標的としたメチル化認識プライマーおよびヒト ALU 配列に対するプライマーを作成し RT-MSP を行い、各遺伝子の Percent Methylated Reference (PMR) を算出した。その後、PMR を説明変数、実年齢を目的変数とする年齢推定のための回帰式を算出し、テストサンプル 40 歯を用いて、その推定精度について検討した。トレーニングサンプル 59 歯における *ELOVL2* の PMR は加齢とともに増加し、*EDARADD* の PMR は加齢に従い減少し、各遺伝子の PMR と実年齢とは正 ( $R^2=0.50$ ) または負 ( $R^2=0.44$ ) の相関を示した。また、重回帰分析の結果、2 つの遺伝子の PMR と実年齢との間には強い正の相関が認められた ( $R^2=0.74$ )。次にテストサンプルを用いて、得られた重回帰式の推定精度を検証した結果、Mean Absolute Error (MAE) は 8.3 歳であった。さらに、3 つの年齢群に分けて推定精度を検証したところ、若年群で 7.6 歳、中年群で 7.5 歳、高齢群で 10.2 歳であり、各年齢群間において有意差は認められなかった。以上の結果から、今回得られた重回帰モデルは、資料の年代を問わず、一定の精度で年齢推定に利用でき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。

---

### Age estimation based on the methylation rate of tooth-derived DNA using real-time methylation-specific PCR

---

○Kondo M, Ogata A, Aboshi H

Dept Leg Med, Nihon Univ Sch Dent

Age estimation is crucial for personal identification of unidentified corpse in the forensic field. DNA methylation, which changes in an age-dependent manner in the upstream region of particular genes, is a candidate biomarker for age estimation. In this study, we quantified the methylation levels of CpG sites within 2 genes in teeth using real-time methylation-specific PCR (RT-MSP), and developed a regression model for age estimation. The *ELOVL2* methylation level positively correlated with age ( $R^2=0.50$ ), whereas the *EDARADD* methylation level negatively correlated with age ( $R^2=0.44$ ). A multiple regression analysis showed a strong positive correlation between the Percent Methylated Reference (PMR) of the two genes and the chronological age ( $R^2=0.74$ ). The regression model was validated using 40 test samples (MAE=8.3 years). In addition, the MAE was 7.6 years for young group, 7.5 years for middle-aged group, and 10.2 years for older group. No significant differences were observed between any age groups. These results indicate that the multiple regression model based on the two genes is stable across the human lifespan.

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

---

---

### 3-PG55 授乳中のラットにおけるメラトニン摂取量と骨の形態や骨質との相関

---

○三島 弘幸<sup>1</sup>, 松本 由樹<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 歯科理工, <sup>2</sup>香川大 農

【目的】メラトニン (MEL) は体内で生成されるホルモンであり, 概日リズムに関与する. MEL は象牙質の成長線形成と石灰化に関与している (Mishima et al., 2018). しかし, MEL 摂取による骨形成時の骨への影響は明らかにされていない. 本研究は, 妊娠中のラットにおける MEL 摂取が, 授乳中の骨の形態と骨質に及ぼす影響を組織学および分析学的に検索することを目的とした.

【方法】6匹のSD妊娠ラットを3つのグループに分けた:(1)対照群 (Con), (2)低濃度群 (Low), (3)高濃度群 (High). MELは9日間投与した. 昼間 (正午) と夜間 (真夜中) に屠殺した. 血漿メラトニン代謝物 (セロトニン:5HT, N-アセチルセロトニン:NAS, メラトニン:MEL, 6-ヒドロキシメラトニン:HaMT) の濃度をLC-MS/MSで測定した. 骨梁面積比は, 蛍光顕微鏡を用いて分析した. 骨の石灰化, 結晶化度, およびコラーゲンの成熟度をFTIRで分析した. 骨組成はSEM-EDS分析によって分析した. 【結果と考察】HaMT値はMEL投与量に比例して増加していた. 血漿中のHaMTは, 母乳を介したMELが子ラットへの移行を示唆した. 骨梁面積比は, 昼間のLow群がCon群よりも有意に高かった. 石灰化は, 昼間においてCon群よりもHigh群で有意に高かった. SEM-EDS分析において, CaとPの質量比は, 昼間のMEL投与群で有意に高かった. ただ, 結晶化度とコラーゲンの成熟度は, 夜間のMEL投与群で有意に低かった. この結果は骨の成熟がMEL投与群の急速な骨形成に追いついていないと考察される. 妊娠中のラットのMEL摂取量が母乳を介して子ラットに移され, 骨の形成と石灰化が促進され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.

---

### Correlation of bone morphology and quality with melatonin intake in lactating rats

---

○Mishima H<sup>1</sup>, Matsumoto Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Eng, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Fac Agric, Kagawa Univ

Melatonin (MEL) is associated with the formation of incremental lines and mineralization of dentin (Mishima et al., 2018). However, the effects of MEL intake during osteogenesis on bone formation in rats have not been clarified. The purpose of this study is to investigate the effect of MEL intake in lactating rats on the morphology and quality of lactating bone. The lactating rats were divided into three groups: (1) control group (Con), (2) low-concentration group (Low), and (3) high-concentration group (High). The concentrations of plasma melatonin metabolites were measured by LC-MS/MS. The trabecular area ratio was observed and analyzed using fluorescence microscopy. The mineralization, crystallinity, and collagen maturity of bone were analyzed by FTIR. The bone composition was analyzed by SEM-EDS. HaMT (6-hydroxymelatonin) value increased in proportion to the MEL dose. The trabecular area ratio was significantly higher in the Low group than in the Con group at midday. In the MEL-treated group, the trabecular area increased, and the mineralization was promoted; however, bone was immature. The current results suggest that MEL intake in the pregnant rats was transferred to child rats through breast milk to promote bone formation and mineralization.

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

---

### 3-PG56 プライマリーシリアを介した下顎頭軟骨老化メカニズムの探索

○北見 恩美<sup>1</sup>, 加来 賢<sup>2</sup>

<sup>1</sup>新潟大 院医歯 歯科薬理, <sup>2</sup>新潟大 院医歯 生体補綴

変形性顎関節症の原因の一つに加齢が挙げられるが、軟骨組織の加齢変化のメカニズムは明らかではない。下顎頭軟骨は咬合力等の機械的負荷に対する緩衝材としての役割を果たしているが、加齢に伴い保水性や粘弾性を担う細胞外基質プロテオグリカンが減少することにより、その緩衝能が劣化すると考えられている。プライマリーシリア（以下シリア）は細胞表面に突出する細胞小器官で、細胞外の環境を細胞内に伝達するアンテナ様の役割を持つ。下顎頭軟骨特異的にシリアを欠失した遺伝子改変マウスでは、軟骨細胞数、細胞外基質の分泌が減少し、老齢マウス下顎頭軟骨に類似した表現型を示す (Kitami et al., 2019)。本研究では加齢による細胞外基質産生能の低下にシリアを介したシグナルが関与しているのではないかという仮説のもと、下顎頭軟骨の加齢に伴う基質産生の変化とシリアの発現率を組織学的に探索した。野生型マウス (C57BL/6J, 5, 15, 26, 52, 78 週齢) の下顎頭軟骨を組織学的に観察したところ、加齢にしたがい Safranin-O に染色される軟骨組織が減少するとともに、軟骨層の菲薄化がみられた。若年齢マウス (5, 15 週齢) では豊富な肥大軟骨細胞が確認されるのに対し、老齢マウス (26, 52, 78 週齢) では加齢にしたがい細胞数の減少と細胞面積の減少が認められた。また抗 GM130 抗体を用いた免疫染色で検出される軟骨基質産生に重要なゴルジ体は、加齢に伴う縮小が確認された。抗 acetylated tubulin 抗体を用いた免疫染色にてシリア陽性細胞率を算出したところ、5 週齢では 44%であったのに対し 15 週齢では 17.8%, 78 週齢では 1.6%にまで減少していた。以上の結果より、加齢に伴う下顎頭軟骨の形態変化および軟骨基質の産生低下と、シリアの発現に相関が見られたことから、軟骨組織の加齢変化にシリアを介したシグナル伝達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。

#### Exploration of mandibular condylar chondrocytes aging mechanism by primary cilia

○Kitami M<sup>1</sup>, Kaku M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup>Div Bio-Prosthodont, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

Mandibular condylar cartilage plays central role in dissipating occlusal force at temporomandibular Joint. The shock-absorbing performance of the condylar cartilage decreases with age, considered to be the reduction of extracellular matrix (ECM) secretion. The primary cilium is an antenna-like organelle that coordinates multiple signaling pathways. Loss of primary cilia leads to reduced cell proliferation and production of proteoglycan in condylar cartilage. Moreover, the condylar cartilage phenotype of the ciliary gene-knockout mice was similar to that of aged mice (Kitami et al., 2019). Therefore, we hypothesized that aging changes of mandibular condylar cartilage are due to the loss of primary cilia. Here, we analyzed the histological changes of condylar cartilage and the number of ciliated cells in aged mice. Five-week-old mice showed a thick hypertrophic chondrocyte layer at mandibular condylar cartilage. On the other hand, reduced thickness of the mandibular condylar cartilage was seen in aged mice (26, 52, 78-week-old). Furthermore, the size of the Golgi apparatus was diminished, and percentages of ciliated cells decreased with age. Collectively, both production of ECM and the percentage of ciliated cells decreased with age. Therefore, cilia-mediated signal transduction may be involved in age-related changes in mandibular condylar cartilage.

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

### 3-PG57 一酸化窒素と活性酸素の下流シグナル分子 8-ニトロ-cGMP による骨代謝調節

○金子児太郎<sup>1,2</sup>, 宮本 洋一<sup>1</sup>, 上條竜太郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>昭大 歯 口腔生化, <sup>2</sup>東京医大 医 口腔外科

【目的】骨の形態と強度は、破骨細胞(OC)による吸収と骨芽細胞(OB)による形成により維持される。一酸化窒素(NO)や活性酸素(ROS)による骨吸収の促進が報告されている一方、NOは濃度により骨形成に逆の作用を示し、ROSは骨形成を抑制するとする報告が多い。しかし、これらの現象の機序は解明されていない。近年、NOとROSの下流分子、8-ニトロ-cGMPが発見された。そこで、OCとOBの分化と機能発現における、8-ニトロ-cGMPの役割を解析した。【方法】マウス骨髄マクロファージ(BMM)をM-CSFとRANKL存在下に培養しOC分化を誘導した。OBは1日齢マウス頭蓋骨より分離した。インターロイキン-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )および腫瘍壊死因子(TNF)- $\alpha$ 存在下・非存在下にBMM, OC, OBにおける8-ニトロ-cGMP生成を8-ニトロ-cGMP特異抗体を用いた免疫染色により検出した。OC分化およびOBの機能に対する合成8-ニトロ-cGMPの影響を、それぞれ、酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ活性とリン酸カルシウム吸収、アルカリホスファターゼ(ALP)活性と石灰化物形成を指標に解析した。それぞれの分化マーカー遺伝子の発現を定量的に評価した。【結果】BMM, OC, OBは、いずれも8-ニトロ-cGMPを生成し、IL-1 $\beta$ とTNF- $\alpha$ はそれを促進した。外因性の8-ニトロ-cGMPは、BMMのRANKL依存的なRANK発現とOC分化を促進した。また、8-ニトロ-cGMPは、OBのALP活性と石灰化の低下をもたらした。一方、cGMPの膜透過誘導体、8-Br-cGMPはOC分化に影響せず、OB分化を逆に促進した。【考察】炎症環境下で産生が亢進するNOとROSは、8-ニトロ-cGMPがcGMP依存性キナーゼ活性化以外の経路で、骨吸収を促進し骨形成を抑制することで、骨の脆弱化を引き起こす可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

### Regulation of bone metabolism by 8-nitro-cGMP, a novel downstream signaling molecule of nitric oxide and reactive oxygen species

○Kaneko K<sup>1,2</sup>, Miyamoto Y<sup>1</sup>, Kamijyo R<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Biochem, Showa Univ, <sup>2</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Tokyo Med Univ

Objectives: Nitric oxide (NO) and reactive oxygen species (ROS) promote bone resorption, while NO has an opposite effect on bone formation depending on its concentration, and ROS inhibits bone formation. However, the mechanisms of these phenomena have not been elucidated. Here, we investigated the role of 8-nitro-cGMP, a downstream molecule of NO and ROS, in the differentiation of osteoclasts (OCs) and osteoblasts (OBs). Methods: OC differentiation from mouse bone marrow macrophages (BMMs) was induced by M-CSF and RANKL. OBs were isolated from 1-day mouse calvaria. 8-Nitro-cGMP production in BMMs, OCs, and OBs in the presence or absence of interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  was detected immunologically. The effect of 8-nitro-cGMP on OC differentiation was analyzed using tartrate-resistant acid phosphatase activity and calcium phosphate resorption and that on OB differentiation by alkaline phosphatase (ALP) activity and calcification. Results: IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  promoted the 8-nitro-cGMP production in BMMs, OCs, and OBs. 8-Nitro-cGMP promoted RANK expression and OC differentiation. 8-Nitro-cGMP reduced ALP activity and calcification in OB cultures. However, 8-Br-cGMP, a cGMP analog, did not affect OC differentiation and inversely promoted OB differentiation. Discussion: Under inflammatory conditions, 8-nitro-cGMP may promote bone resorption and inhibit bone formation through cGMP-dependent kinase activation-independent pathways.

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



### 3-PG58 EGR1 は BMP9 による SMAD1/5 活性化を増強して骨芽細胞分化を促進する

○千葉 紀香<sup>1</sup>, 成 昌奂<sup>2</sup>, 大西 智和<sup>1</sup>, 松口 徹也<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鹿大 院医歯 口腔生化, <sup>2</sup>鹿大 院医歯 顎顔面外科

**【目的】** 骨形成因子 (BMP) はトランスフォーミング増殖因子  $\beta$  (TGF $\beta$ ) スーパーファミリーに属しているサイトカインであり, 強い骨形成促進作用があることが知られている. その作用の有用性から, 歯槽骨再生や骨折, 骨の喪失などに対する骨再生療法において効果的な臨床応用への期待が高まっている. BMP9 は BMP ファミリーの中でも最も強い骨芽細胞分化誘導能を持つことが報告されているが, そのシグナル伝達機構を含めて作用機構については未だ解明されるべき点も多い. 我々は近年, 転写因子として知られる初期増殖応答タンパク質 1 (early growth factor response protein 1, EGR1) の骨芽細胞内での発現が BMP9 刺激により著明に上昇することを見出した. そこで, 骨芽細胞内の BMP9 シグナル伝達における EGR1 の役割について検討した.

**【材料と方法】** マウス前骨芽細胞株 MC3T3-E1, マウス頭頂骨由来骨芽前駆細胞に BMP9 で骨芽細胞分化誘導刺激を与え, EGR1 の発現の変化を確認した. また, siRNA によるノックダウン, Tet-On システムによる強制発現系を用いて, EGR1 の役割についてリアルタイム PCR 法, 免疫沈降法やウエスタンブロッティング法などを用いて解析した.

**【結果】** マウス頭頂骨由来骨芽前駆細胞と MC3T3-E1 を BMP2 や BMP9 で刺激したところ, 迅速な EGR1 の遺伝子発現と細胞内のタンパク質量の上昇が確認された. また, BMP9 により誘導される骨分化マーカー遺伝子の発現は siRNA による EGR1 ノックダウンにより抑制され, TetOn システムによる強制発現により増強された. また, EGR1 は SMAD1/5 に結合しており, そのリン酸化の増強ないしは脱リン酸化の抑制へ関与することも分かった.

**【結論】** EGR1 は BMP9 による骨芽細胞分化に促進的に働くことが示された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

### EGR1 plays an important role in BMP9-mediated osteoblast differentiation by promoting SMAD1/5 phosphorylation

○Chiba N<sup>1</sup>, Seong CH<sup>2</sup>, Ohnishi T<sup>1</sup>, Matsuguchi T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci

**【Purpose】** Bone morphogenetic protein 9 (BMP9) is known as the most powerful osteoinductive factor among BMPs that belong to the TGF- $\beta$  superfamily. Because of the osteoinducibility of BMP9, the signaling transduction detail needs to be elucidated for better clinical treatment. We have found early growth response 1 (EGR1) that is known as a transcription factor is significantly increased by BMP9 in osteoblasts. The goal of study is to identify the role of EGR1 in BMP9-induced signal transduction in osteoblasts.

**【Materials and methods】** Osteoblast cell line MC3T3-E1 cells and mouse calvaria-derived primary osteoblasts were used. Cells were stimulated with mouse recombinant BMPs for following experiments. TetOn-mEGR1 transfectant were established and received doxycycline for mEGR1 induction. Gene knockdown was performed with mEGR1-specific siRNA.

**【Results and conclusion】** Early growth response 1 protein expression was rapidly induced with BMP2/9 in osteoblasts, which is dependent on MEK/ERK activation. Knockdown of EGR1 using siRNA significantly inhibited BMP9-induced matrix mineralization and osteogenic marker gene expression in osteoblasts, whereas DOX-induced EGR1 overexpression enhanced BMP9-induced osteoblast differentiation and SMAD1/5 phosphorylation. Immunoprecipitation assay revealed an association between EGR1 and SMAD1/5, and the association facilitated BMP9-induced SMAD1/5 phosphorylation. These results indicated that EGR1 plays an important role in BMP9-induced osteoblast differentiation.

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

---

### 3-PG59 ニワトリ胚二次軟骨基質の免疫組織化学的研究

---

○柴田 俊一, 高橋 昌己, 渋井 徹, 入江 一元

北医療大 歯 解剖

【目的】哺乳類の二次軟骨である下顎頭軟骨は骨膜様組織に由来し急速に肥大軟骨細胞に分化することなどの特徴を持つ。一方、ニワトリ胚の頭蓋顔面領域には多くの二次軟骨が出現するがその構造上の特徴は十分に解明されていない。本研究は一次軟骨と比較しながら二次軟骨の細胞外基質成分を免疫組織化学的に検索した。

【方法】孵卵9.0-18.0日齢(E9.0-18.0)のロードアイランドレッド系ニワトリ胚を用いた。二次軟骨として上角骨(surangular)、鱗状骨(squamosal)及び翼状骨(ptyergoid)上内側部に出現するものを、一次軟骨として関節骨(articular)と方形骨(quadrata)を対象とした。標本は通報に従ってパラフィン切片を作成し、versican, aggrecan, types II および X collagen, ヒアルロン酸(HA)の免疫染色を施して観察した。

【結果】各二次軟骨はE11.0日から形成され始め、E13.0日では形成が進行していた。E13.0の関節骨では軟骨組織全体に versican および aggrecan の免疫染色が認められ、中央部では versican, 辺縁部では aggrecan の強い染色が認められた。Type II collagen は辺縁部で強い免疫染色が認められたが、type X collagen は認められなかった。上角骨二次軟骨は軟骨基質全体に versican, および aggrecan の免疫染色が認められ、type X collagen は type II よりも広い範囲で認められた。鱗状骨二次軟骨は上角骨二次軟骨と同様な染色性が認められたが、翼状骨二次軟骨は type II collagen のみ強い染色が認められるという特徴を示した。

【考察】一次軟骨では軟骨分化が順次進行していくのに対し、二次軟骨では各分化段階が急速に進行すると考えられた

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### An immunohistochemical study of extracellular matrices in embryonic chicken secondary cartilages

---

○Shibata S, Takahashi M, Shibui T, Irie K

Dept Anat, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent

(Purpose) Mandibular condylar cartilage, representative secondary cartilage, is derived from periosteum like tissues, and rapidly differentiates into hypertrophic chondrocytes. In embryonic chicken, several secondary cartilages appear in craniofacial region, and we executed immunohistochemical analyzes of their extracellular matrices comparing with those of primary cartilages.

(Methods) Chicken embryos (Rhode Island Red : E 9.0-18.0) were used. We adopted secondary cartilages in surangular, squamosal, and superiomedial part of pterygoid bone. Paraffin sections were used for immunostaining for versican, aggrecan, collagen types II and X, and hyaluronan.

(Results) Each secondary cartilage was clearly formed at E 13.0. In the articular bone cartilage (primary cartilage), strong aggrecan and type II collagen immunoreactivity was detected at the peripheral layer, and versican was in the central area. Type X collagen immunoreactivity was not detected. Meanwhile, in the secondary cartilage of the surangular bone, aggrecan, and versican immunoreactivity was recognized throughout the matrix, and type X collagen immunoreactivity was more widely detected than that of type II collagen. The secondary cartilage in the pterygoid bone just showed strong type II collagen immunoreactivity.

(Conclusion) Cartilage differentiation gradually progresses in the primary cartilage, but rapidly in the secondary cartilages.

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

---

---

### 3-PG60 牽引負荷刺激は骨細胞のストレス応答遺伝子を活性化し細胞周期の停止を誘導する

---

○藤原 恭子<sup>1,2</sup>, 清水なつ生<sup>3,4</sup>, 高橋 富久<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>日大 歯 解剖 1, <sup>2</sup>日大 歯 総歯研 機能形態, <sup>3</sup>日大 院歯 応用口腔科, <sup>4</sup>日大 歯 歯科矯正

---

力学的負荷は、骨の恒常性維持やリモデリングの制御に重要な役割を持つ。骨小腔に存在する骨細胞が負荷を感受し、骨芽細胞や破骨細胞の働きを制御することが知られているが、その詳細な分子機序については未だに不明な点が多い。本研究では骨細胞が力学的負荷に応じて示す変化を解明するために、マウス骨細胞様株化細胞 MLO-Y4 に周期的牽引力を与え、細胞機能や遺伝子発現プロファイルに及ぼす影響について調べた。周期的牽引刺激は Flexcer Strain Unit (FX-3000) を使用して加えた。負荷の強さは 18%、1 分間 6cycle、24 時間とした。MLO-Y4 に周期的牽引刺激を与えると、細胞の生存率が低下したが、FCAS 分析から、これは細胞死の誘導ではなく、細胞周期が G2 または M 期に停止した細胞の割合が増加したためであることが示された。周期的牽引刺激で発現上昇する遺伝子群に特徴的な機能について GO enrichment 解析を行った結果、酸化ストレスへの応答や細胞死、オートファジーに関連する遺伝子群が多く含まれていた。さらに KEGG pathway enrichment 解析によって Glutathione-s-transferase-alpha をはじめとする各種グルタチオン代謝酵素や、p53 関連シグナルに関する pathway が絞り込まれ、p53 の活性化やその下流遺伝子である GADD45A の発現上昇がタンパクレベルで確認できた。以上の結果から、周期的牽引刺激によって、p53 を含むストレス応答分子の発現が活性化されて細胞周期が停止した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。

---

### Tension force induces cell cycle arrest in osteocytes by activating expression of stress response

---

○Fujiwara K<sup>1,2</sup>, Shimizu N<sup>3,4</sup>, Takahashi T<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Funct Morpho, Dent Res Cent, Nihon Univ Sch Dent, <sup>3</sup>Div Appl Oral Sci, Dent Res Cent, Nihon Univ Sch Dent, <sup>4</sup>Dept Orthodont, Nihon Univ Sch Dent

---

It has been well known that mechanical force to osteocytes has crucial roles in regulation of osteoblasts and osteoclasts, however exact molecular mechanisms are still elusive. In the present study, we analyzed the cell function and gene expression pattern of a mouse osteocyte cell line, MLO-Y4, exposed to tension force (TF). TF at 18% elongation and 6 cycles/min was applied to the cells for 24 hours by using Flexcer Strain Unit (FX-3000). The cell viability was decreased by the TF treatment, and FACS analysis revealed that the reduced viability was caused by cell cycle arrest at G2/M phase but not by the induction of cell death. Differentially expressed genes between TF-treated and non-treated cells were screened by microarray analysis, and GO enrichment analysis revealed that genes related to oxidative stress response and autophagy were significantly upregulated by TF. KEGG pathway enrichment analysis detected the abundance of the pathway for glutathione metabolism and p53 signaling in TF-treated cells. Analysis of protein expression level confirmed the activation of p53 and its downstream genes such as GADD45A in TF-treated cells. These results suggested that TF stress induced cell cycle arrest by activating the expression of stress response genes in MLO-Y4.

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

---

### 3-PG61 ポリ乳酸バイオアクティブフィルムへのマウス骨芽細胞様細胞の挙動に対する豚コラーゲン、ティラピア魚コラーゲンの固定化の効果

○布施 恵<sup>1</sup>, 楠瀬 隆生<sup>2</sup>, 小方 頼昌<sup>3</sup>

<sup>1</sup>日大松戸歯 教養 (化学), <sup>2</sup>日大松戸歯 教養 (生物), <sup>3</sup>日大松戸歯 歯周

ポリ (乳酸) (PLA), ポリ (D, L-乳酸) (PDLA), ポリ (グリコール酸), ポリ (乳酸-co-グリコール酸) (PLGA) などの生分解性および生体吸収性ポリマーは, 吸収性外科用縫合糸, 顎骨再建インプラント, およびドラッグデリバリーシステムなど多くの生物医学的用途に広く応用されている. 本研究では, ブタ皮膚コラーゲン (PSColl), あるいは, ティラピア魚の鱗コラーゲン (TFColl) をポリ (乳酸) (PLA) に固定化し, PSColl, TFColl 固定化 (PSColl-PLA, TFColl-PLA) フィルム表面へのマウス骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1) の付着や増殖の評価をした. PSColl-PLA, TFColl-PLA フィルムは, 水溶性カルボジイミドを使用して, 加水分解した PLA (PLA-COOH) フィルム表面のカルボキシル基と PSColl または TFColl のアミノ基との間の縮合反応によって得られた. PSColl-PLA, TFColl-PLA に付着した細胞数は, 90 分および 3 日と 7 日で PLA に付着した細胞数よりも有意に増加した ( $p < 0.05$ ). PSColl-PLA, TFColl-PLA および PLA の 14 日において石灰化の定量化を行った. PSColl-PLA, TFColl-PLA は, PLA よりも有意に高い値を示した ( $p < 0.05$ ). MC3T3-E1 の形態学的差異は, 細胞アッセイの初期にみられた. とりわけ, PSColl-PLA および TFColl-PLA に付着した細胞は, 90 分において PLA に付着した細胞よりも扁平化がみられた. これらの結果は, PLA フィルムへの PSColl および TFColl の固定化は細胞の接着および増殖に対し有効性を示した. これらの材料は, 歯科および医科分野における骨形成の新しい候補材として有望である.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

#### Effect of porcine collagen or tilapia fish collagen immobilization on polylactic acid bioactive films for behavior of mouse osteoblast-like cells

○Fuse M<sup>1</sup>, Kusunose T<sup>2</sup>, Ogata Y<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Lib Arts Chem, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Lib Arts Biol, Nihon Univ Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Perio, Nihon Univ Sch Dent

In the present study, porcine skin collagen (PSColl) or tilapia fish scale collagen (TFColl) was immobilized onto poly (lactic acid) (PLA), and the attachment and proliferation of mouse osteoblast-like cells (MC3T3-E1) on PSColl- or TFColl-immobilized PLA (PSColl-PLA or TFColl-PLA) film surfaces were evaluated. PSColl- or TFColl immobilized PLA was prepared through a condensation reaction between the carboxylic acid groups on the hydrolyzed PLA (PLA-COOH) surface and the amino groups of Coll or FN using water soluble carbodiimide. The number of cells attached to PSColl-PLA or TFColl-PLA films was significantly higher than that attached to PLA films at 90 min and 3 and 7 d ( $p < 0.05$ ). The quantification of mineralization on the PSColl-PLA, TFColl-PLA, and PLA films at 14 days was examined. PSColl-PLA and TFColl-PLA films significantly enhanced the mineralization of MC3T3-E1 ( $p < 0.05$ ). The morphological differences of the adhered MC3T3-E1 were monitored at the early cell assay stage. Especially, cells attached to PSColl-PLA and TFColl-PLA films appeared flatter than those attached to PLA films at 90 min. These results indicated the effectiveness of PSColl and TFColl immobilization of PLA for cell attachment and proliferation.

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



---

### 3-PG62 $\beta$ -glucan によるオートファジーを介した破骨細胞分化抑制機構

---

○有吉 渉, 永井-吉岡 香絵, 山崎 亮太

九歯大 感染分子生物

---

我々はこれまでの研究で、ミエロイド系細胞に発現している糖鎖認識受容体である dectin-1 のリガンドである  $\beta$ -glucan が、破骨細胞分化に関わる syk タンパクの分解により、NFATc1 の発現抑制を介して、破骨細胞形成を負に制御することを報告した。そこで、 $\beta$ -glucan による syk タンパクの分解機構の詳細を明らかにすることを目的に研究を行った。破骨細胞前駆細胞 RAW264.7 の dectn-1 過剰発現株を樹立し、 $\beta$ -glucan を添加して培養を行ったところ、control 株と比較し、syk タンパクの分解が顕著に誘導された。この分解誘導は、細胞内の液胞型  $H^+$ -ATPase の特異的阻害剤である bafilomycin A1 の前処理により回復した。さらに  $\beta$ -glucan の添加により、細胞内の LC3-II のタンパク量は増加し、オートリソソームの形成が誘導された。このことから  $\beta$ -glucan に誘導される dectin-1, syk タンパクの分解が、オートファジー・リソソーム系に依存していることが明らかとなった。また、このバルク分解系の誘導には、phosphatidylinositol 3-kinase の活性化が関与している可能性が示唆された。その一方で、sucrose および methyl- $\beta$ -cyclodextrin の前処理により、 $\beta$ -glucan による syk タンパクの分解が部分的に回復し、syk 分解系の誘導にクラスリン、カベオラおよび脂質ラフト依存性のエンドサイトーシスとの協調による細胞内代謝システムの統合的な制御が関与していることが考えられた。近年、細胞の恒常性維持のため、特定のタンパクが選択的に分解される「選択的オートファジー」が注目されている。そこで、syk タンパク分解系のターゲティングの制御機構についての解析を継続中である。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Inhibition of osteoclast differentiation mediated by $\beta$ -glucan-induced autophagy

---

○Ariyoshi W, Nagai-Yoshioka Y, Yamasaki R

Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ

---

Dectin-1, a pattern recognition receptor for  $\beta$ -glucan, is found predominantly on cells of the myeloid lineage. In the previous study, we have demonstrated that the  $\beta$ -glucan inhibits osteoclast formation through degradation of syk protein in osteoclast progenitor cells. To clarify the molecular mechanisms of syk protein degradation by  $\beta$ -glucan and dectin-1 interaction, we established dectin-1 over-expressing RAW264.7 cells (dectin-RAW). Pretreatment with the vacuolar  $H^+$ -ATPases inhibitor (bafilomycin A1) or phosphoinositide 3-kinase inhibitor (3-methyladenine) markedly blocked the syk degradation induced by  $\beta$ -glucan in dectin-RAW. We also found that  $\beta$ -glucan stimulation increased the LC3-II protein expression and autolysosome formation. These results suggested that autophagy plays an important role in degradation of syk protein in osteoclast progenitor cells. Furthermore, we revealed that internalization of curdlan-dectin-1 complex via clathrin, caveolae and lipid raft-mediated endocytosis is required for the  $\beta$ -glucan-induced syk degradation in dectin-RAW. The regulatory mechanisms for targeting of syk protein in this proteolytic system are currently under investigation. Manipulating syk expression levels by  $\beta$ -glucan in osteoclast progenitor cells might have beneficial therapeutic effects in patients with osteoclast-related diseases.

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

---

### 3-PG63 シアル酸受容体タンパク質 Siglec-15 中和抗体の破骨細胞と骨芽細胞に対する作用

○中村美どり<sup>1</sup>, 宇田川信之<sup>1</sup>, 小出 雅則<sup>2</sup>, 上原 俊介<sup>1</sup>, 山下 照仁<sup>2</sup>, 小林 泰浩<sup>2</sup>

<sup>1</sup>松歯大 生化, <sup>2</sup>松歯大 総歯研 硬組織機能解析

【目的】破骨細胞では、ITAM モチーフ含有分子の中では DAP12 と FcR $\gamma$  の発現が高く、ダブル欠損マウスは大理石骨病を呈する。津田らは、DAP12 と会合して、破骨細胞の分化に伴って特異的に発現が上昇する免疫グロブリンスーパーファミリー分子として、シアル酸受容体タンパク質 Siglec-15 を同定した。今回、Siglec-15 中和抗体の効果について、マウス由来の細胞培養系およびマウス投与実験において検討した。【結果】(1) Siglec-15 抗体は、骨芽細胞と骨髄細胞の共存培養系で形成された破骨細胞のアクチンリング形成および象牙質切片上の吸収窩形成を濃度依存的に阻害した。(2) 骨髄細胞培養系に RANKL と M-CSF を添加し破骨細胞が誘導される条件で、Siglec-15 抗体は TRAP 陽性の多核破骨細胞の分化を阻害した。一方、アルカリホスファターゼ陽性の骨芽細胞が多数誘導された。この時、多核破骨細胞形成は完全に抑制されたが、単核 TRAP 陽性前破骨細胞の存在が認められた。(3) 我々は、破骨細胞由来の LIF がスクレロスチン抑制を介して、骨形成を促進させるカップリング因子である可能性を見出した。Siglec-15 抗体で処理した破骨細胞においてカテプシン K および RANK の発現維持と同様に、LIF 発現も維持されていた。(4) Siglec-15 抗体を正常マウスおよびオステオプロテゲリン (OPG) 遺伝子欠損マウスに毎週 1 回投与した。30 日目の骨組織を観察したところ、正常マウスにおける骨量増加作用および OPG 欠損マウスにおける骨粗鬆化の改善傾向が認められた。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

### Effects of sialic acid receptor protein Siglec-15 neutralizing antibody on osteoclasts and osteoblasts

○Nakamura M<sup>1</sup>, Udagawa N<sup>1</sup>, Koide M<sup>2</sup>, Uehara S<sup>1</sup>, Yamashita T<sup>2</sup>, Kobayashi Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

[Purpose] In osteoclasts, DAP12 and FcR gamma are highly expressed among the ITAM motif-containing molecules. Tsuda et al. identified the sialic acid receptor protein Siglec-15 as an immunoglobulin superfamily molecule. This time, the effect of Siglec-15 neutralizing antibody was examined. [Results]

(1) The Siglec-15 antibody inhibited the actin ring formation and the absorption fossa formation on the dentin section of osteoclasts formed in the co-culture system. (2) Under the condition that RANKL and M-CSF were added to the bone marrow cell culture system to induce osteoclasts, the Siglec-15 antibody inhibited the differentiation of TRAP-positive mononuclear osteoclasts. On the other hand, a large number of alkaline phosphatase-positive osteoblasts were induced. At this time, multinucleated osteoclast formation was completely suppressed. (3) We have found that osteoclast-derived LIF may be a coupling factor that promotes bone formation through suppression of sclerostin. LIF expression was maintained as well as cathepsin K and RANK expression in osteoclasts treated with Siglec-15 antibody. (4) Siglec-15 antibody was administered once a week to normal mice and osteoprotegerin (OPG) gene-deficient mice. When the bone tissue on the 30th day was observed, a bone mass-increasing effect in normal mice and an improving tendency of osteoporosis in OPG-deficient mice were observed.

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

---

### 3-PG64 ナノ粒子を用いたレチノイド局所投与による骨成長の調整

---

○内部 健太, 寺山 隆司

広大院医 顎顔面解剖

成長期の骨折などによる成長板損傷は、その後の骨の成長障害や変形を引き起こす原因となり得るが、現状では健側に対する骨端閉鎖術等の外科的処置による成長のインバランスの解消が唯一の治療法である。一方で、ビタミンAの過剰症は骨の成長板軟骨の早期消失を引き起こすことが知られているが、その発生機序は現在まで明らかとなっていない。本研究では、ビタミンAの活性型代謝産物であるレチノイン酸による成長板軟骨の制御機構を明らかにし、骨成長の調整への応用の可否を検討することを目的とした。成長期のマウスにレチノイン酸受容体 (RAR $\alpha/\beta/\gamma$ ) の選択的アゴニストを全身投与したところ、RAR $\gamma$ アゴニストの投与によって著しい成長阻害が見られたが、RAR $\alpha$ , RAR $\beta$ アゴニストでは明らかな影響は見られなかった。成長板軟骨を組織学的に観察すると、投与初期において肥大化細胞層の増大が見られ、その後成長板の早期閉鎖が生じている事が明らかとなった。ナノ粒子を用いたアゴニストの脛骨近位成長板に対する局所投与においては、コントロール粒子を投与した側と比較して投与側では骨成長の抑制が見られ、さらに投与部位の調整により角状変形を誘導することも確認された。これらの結果より、ナノ粒子を用いたRAR $\gamma$ アゴニストの局所投与は、標的の成長板の機能を調整することで、成長板損傷によって生じた四肢の長さの不一致や角状変形に対する薬剤治療の手法となる可能性がある事が明らかとなった。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Retinoid-loaded nanoparticles enable targeted bone growth by modulating function of the growth plate

---

○Uchibe K, Terayama R

Dept Maxillofac Anat & Neurosci, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci

Growth-plate (GP) injuries may result in impairment of GP function and deceleration of the bone growth, leading to progressive growth imbalance and deformity. In this study, we aimed to develop a pharmacologic treatment that involves local application and controlled release of a nanocarrier-encapsulated synthetic compound selectively targeting the retinoic acid nuclear receptor (RAR) gamma. We demonstrated that systemically administered selective RAR gamma agonists induced GP closure and inhibited bone growth in juvenile mice. RAR alpha and RAR beta agonists did not inhibit bone growth. When nanoparticle-encapsulated RAR gamma agonists were injected in the vicinity of the proximal tibial growth plate at both medial and lateral sites, the GP was closed losing its hypertrophic zone, and the bone length was markedly shortened compared to the contralateral bone treated with drug-free control nanoparticles. When the RAR gamma agonist-loaded nanoparticles were injected only at the lateral site, the proximal epiphysis of the treated bone tilted to the lateral site, leading to angular deformity. These findings indicate that RAR gamma agonist-loaded nanoparticles may be used to control function of the targeted GP, potentially offering a clinically viable alternative or supplemental to surgical correction of limb length discrepancy and angular deformities.

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

---

---

### 3-PG65 ハクビシン (*Paguma larvata*) の頭蓋成長にともなう骨性小脳テントの形態形成パターン

---

○子安 和弘, 池田やよい

愛院大 歯 解剖

ハクビシン (*Paguma larvata*) は食肉目ジャコウネコ科に属し, 胎仔期には主要な形態形成が行われずに, 未成熟な状態で仔が生まれてくる「晩成性」の動物である. ハクビシン頭蓋骨の骨化様式については十分な知見が得られていない. そこで, 本研究では, 名古屋市内で捕獲されたハクビシンの幼体から成体におよぶ 52 個体について  $\mu$ CT を用いて, 頭蓋腔の頭頂骨と後頭骨の境界付近に認められる骨性小脳テントの骨化様式について観察を行った. 最も若齢であると考えられた個体では頭頂骨-後頭骨縫合 (ラムダ縫合) 部分の縫合が完成しておらず, 骨化途上の骨性小脳テントは頭頂骨との癒合が認められたが後頭骨との癒合や縫合は認められなかった. したがって, ハクビシンにおける骨性小脳テントは頭頂骨由来であることが明らかであった. また, この個体を含む幼若齢個体では左右の骨性小脳テントの骨化の進行が左右で同調していないものが認められた. 骨性小脳テントの発生母体となる頭頂骨の骨化様式は膜性骨化であり, 頭頂骨の後方の後頭骨では上方が膜性骨化, 下方が軟骨性骨化であるとされている. したがって, 骨性小脳テントの骨化様式も膜性骨化であると考えられ, 左右の骨化進行様式の不一致は膜性小脳テントからの骨化進行スピードの違いによるものであると考えられ, 進化の過程における骨性小脳テントの形成様式に重要な示唆をあたえるものと思われるため今回の発見は哺乳類における骨性小脳テントの形成過程に関する重要な発見であると考えられた.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

### Morphogenetic pattern of bony cerebellar tentorium with cranial growth of masked palm civet (*Paguma larvata*)

---

○Koyasu K, Ikeda Y

Dept Anat, Aichi Gakuin Univ Sch Dent

Masked palm civet (*Paguma larvata*) belongs to the order Carnivora and is a "late-maturing" animal in which pups are born in an immature state without major morphogenesis during the fetal period. We studied the ossification pattern of the bony cerebellar tentorium using 52 individuals from juveniles to adults captured in Nagoya city. In the youngest individual, the parietal-occipital bone suture (lambda suture) was not completely sutured. It was clear that the bony cerebellar tentorium in masked palm civet was derived from the parietal bones. In addition, in young individuals, the progress of bone formation in the left and right bony cerebellar tentories was found to be out of sync with the left and right. The ossification mode of the parietal bone, which is the mother of the bony cerebral tent, is membranous ossification. The ossification pattern of the bony cerebral tent is also considered to be membranous ossification, and the discrepancy between the left and right ossification progression patterns is considered to be due to the difference in the ossification progression speed from the membranous cerebral tent. It seemed to provide important implications for the mode of formation of the bony cerebral tent during evolution.

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

---



---

### 3-PG66 コラゲナーゼ注入による筋腱接合部の再生・形態変化と筋機能への影響

---

○山本悠太郎, 渡辺 元次, 高木 貴博, 廣内 英智, 山本 将仁, 松永 智,  
阿部 伸一  
東齒大 解剖

【目的】筋腱接合部(MTJ)は、筋で生じた収縮力を腱に伝える部位であり、日常的に損傷やそれに伴う再生およびリモデリングが生じていることが知られている。これまで除神経、不動化、無重力、運動、加齢など、様々な条件下でMTJの形態学的な変化を調べた研究はされてきたが、MTJに直接損傷を与えた際の再生過程や形態学的な変化、ならびにそれによって生じる筋機能の変化に関しては不明な点が多い。そこで今回我々はMTJにコラゲナーゼを注入することにより、MTJを損傷させ、その後の再生・形態変化と筋機能への影響の検索を試みた。【方法】試料として、24週齢のオスC57BL6Jマウス40体を用い、実験群と対照群の2群に分けた。左側下腿三頭筋とアキレス腱のMTJに、実験群はコラゲナーゼを、対照群はPBSを注入した。その後、足底関節トルク測定試験を毎週行いつつ、注入後1~6週後にそれぞれ屠殺した。周囲組織を採取した後、凍結切片を作製し、形態染色や、MTJマーカーや筋細胞膜マーカーなどをターゲットとした免疫組織化学染色を施し、各種解析を行った。【結果と考察】実験群は術後3週目までは足底関節トルクが有意に低値となり、4週目以降には回復傾向を示した。また、連続切片で免疫組織化学染色を行うことによりMTJの近遠心的な長さを測定したところ、実験群は術後3週目にもっとも低値を示し、その後は徐々に回復する傾向を示した。以上の結果より、MTJの形態の変化と筋機能に関連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。

---

### Regenerative and morphological changes of myotendinous junction and effects on muscle function by collagenase injection

---

○Yamamoto Y, Watanabe G, Takagi T, Hirouchi H, Yamamoto M, Matsunaga S, Abe S  
Dept Anat, Tokyo Dent Coll

[Purpose]The Myotendinous junction(MTJ) is an important site that transfers contractile force generated between muscles and tendons. Many studies have investigated the morphological changes of MTJs under various conditions, but a few research have been conducted on the morphological changes and the effects on muscle function that occur when MTJs are directly damaged. In this study, we investigated the changes and effects by injecting collagenase directly into the MTJ to induce injury. [Method]The experimental group was injected with collagenase and the control group with PBS at the MTJ of the left triceps surae muscle and Achilles tendon. Plantarflexion torque measurement tests were performed, and the mice were sacrificed after 1 to 6 weeks respectively. Tissues were collected for morphological and immunohistochemical staining, and various analyses were performed. [Results and Discussion]In the experimental group, plantarflexion torque was low until the 3rd week after injection and showed a recovery trend after the 4th week. The length of the MTJ was measured by immunohistochemical staining, and the experimental group showed the lowest value at the 3rd week, followed by a gradual recovery trend. These results indicated that there is a relationship between changes in the morphology of MTJs and muscle function.

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

---

### 3-PG67 吸啜から咀嚼への転換期におけるリズム性咀嚼筋活動の変化

○山田 雅治<sup>1</sup>, 片桐 綾乃<sup>1</sup>, 増田 裕次<sup>3</sup>, 豊田 博紀<sup>1</sup>, 丹羽 均<sup>2</sup>, 加藤 隆史<sup>1</sup>

<sup>1</sup>阪大 院歯 口腔生理, <sup>2</sup>阪大 院歯 麻酔, <sup>3</sup>松歯大 院歯 顎口腔機能

【目的】 吸啜から咀嚼へ変化する生理機序に関する研究は少ない。本研究では、同一個体のラットを用いて、離乳前後の食物摂取時の顎運動の変化を筋電図学的に明らかにすることを目的とした。

【方法】 外科処置：10日齢のラット(n=8)の咬筋・側頭筋に筋電図電極を設置した。記録：14日齢に、専用チャンバーで母ラットのみをイソフルランで麻酔し、その腹上で仔ラットに乳首を吸啜させて吸啜運動を記録した。21日齢ではペレットとパスタの咀嚼および、小皿の牛乳の摂取における筋活動を記録した。解析：筋電図波形から10サイクルを抽出し波形処理と波形解析を行い、顎運動リズムおよび咀嚼筋間の協調性と活動のLagを算出した。

【結果】 吸啜運動では nipple attachment と rhythmic sucking が観察された。咀嚼運動では齧りとり咀嚼と臼歯咀嚼が観察された。顎運動リズムは nipple attachment では  $3.4 \pm 0.4$  Hz, rhythmic sucking では  $0.5 \pm 0.1$  Hz であった。また、顎運動リズムは、パスタ齧りとり咀嚼では  $4.9 \pm 0.2$  Hz で、ペレット臼歯咀嚼では  $4.1 \pm 0.3$  Hz, 牛乳摂取時の顎運動では  $5.8 \pm 0.6$  Hz であった。咬筋と側頭筋の協調性に関する相関係数は、nipple attachment, rhythmic sucking, 臼歯咀嚼, 齧りとり咀嚼, 牛乳摂取運動でそれぞれ、 $0.73 \pm 0.06$ ,  $0.83 \pm 0.10$ ,  $0.81 \pm 0.06$ ,  $0.69 \pm 0.06$ ,  $0.66 \pm 0.14$  であった。咬筋と側頭筋の筋活動のLagはそれぞれ $-0.01 \pm 0.02$ 秒,  $-0.02 \pm 0.02$ 秒,  $-0.00 \pm 0.01$ 秒,  $0.04 \pm 0.01$ 秒,  $0.03 \pm 0.03$ 秒であった。これらの変数について運動間で有意な差を認めた。(p<0.05)

【考察】 離乳前後で食物摂取に関わるリズムカルな顎運動の特性は異なり、閉口筋筋活動の神経制御様式が変化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。

### Differences of the rhythmic EMG activities between suckling and mastication in free-moving infant rats

○Yamada M<sup>1</sup>, Katagiri A<sup>1</sup>, Masuda Y<sup>3</sup>, Toyoda H<sup>1</sup>, Niwa H<sup>2</sup>, Kato T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Dent Anesth, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Oral Maxillofac Biol, Grad Sch Oral Med Matsumoto Dent Univ

[Purpose] This study aimed to clarify the changes in masticatory muscle activities between suckling and mastication in free-moving infant rats.

[Method] Rat pups received surgery for placement of EMG electrodes in the masseter and temporalis muscles on the postnatal day 10 (P10). At P14, EMG activities of suckling behaviors were recorded. At P21, EMG activities were recorded while eating pellets and pasta as well as lapping milk. The rhythm, the correlation and lag between the EMG activities of masseter and temporalis muscles were calculated by waveform processing and analysis of 10 repetitive EMG bursts.

[Result] At P14, a rhythm of suckling behaviors including nipple attachment and rhythmic sucking varied from 0.5 Hz to 3.4 Hz. At P21 Pasta biting and pellet chewing as well as milk lapping showed faster rhythms (4.1 to 5.8 Hz) compared to suckling behaviors. The correlation and lag between the masseter and temporalis EMG activities varied among the above rhythmic feeding behaviors.

[Discussion] The electromyographic characteristics of rhythmic feeding behaviors changed significantly before and after the weaning, suggesting that masticatory motor systems may receive different spatiotemporal rhythmic neural inputs.

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

---

### 3-PG68 ヒトうま味受容体 *TAS1R1* 遺伝子の転写調節における POU 転写因子の機能解析

---

○豊野 孝, 松山 佳永, 片岡 真司, 瀬田 祐司  
九歯大 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の詳細は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* 遺伝子のプロモーター領域の解析を行った.

*TAS1R1* 遺伝子プロモーター領域において, これまでの解析により転写活性化領域を同定している. 本領域を対象として, 動物種間での保存配列を Mammals Multiz Alignment & Conservation (27 primates) を用いて検索し, さらに転写因子結合配列データベース (JASPAR 2022) で検索された保存配列を解析した. その結果, 転写活性化領域中に 1 カ所の保存配列が認められ, その配列中には, POU 転写因子が結合する octamer motif が検索された. そこで, 本 motif 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, 変異の導入により, 46% のレポーター活性の低下が認められた. 次に, ヒト初代茸状乳頭味蕾細胞における POU 転写因子ファミリーの発現様式を RNA-seq 法を用いて解析したところ, POU2F1, POU2F2 および POU2F3 の発現が明らかになった. そこで RNAi 法によりこれらの転写因子を発現阻害させ, リアルタイム-RT-PCR 法により *TAS1R1* 遺伝子発現量の変化を調べた. その結果, POU2F3 の発現阻害により *TAS1R1* 遺伝子発現量の減少が認められた.

以上の結果から, ヒト味蕾細胞において octamer motif および転写因子 POU2F3 が *TAS1R1* 遺伝子の転写活性化に関わっ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.

---

### Functional analysis of POU transcription factors in the human *TAS1R1* umami receptor gene expression

---

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

---

The mechanism of transcriptional regulation of human *TAS1R1* umami receptor gene has not been elucidated. In this study, we examined the function of *TAS1R1* promoter in the human primary fungiform taste cells.

Previous study showed that the region (-698 to -627 bp) in the *TAS1R1* promoter was involved in *TAS1R1* promoter activity. The octamer motif in this region was conserved in the many mammalian species. Site-directed mutagenesis of the octamer motif in *TAS1R1* promoter significantly reduced promoter activity. Octamer motif is the recurring motif of POU transcription factors in promoters. Therefore, the expression patterns of POU transcription factors in human fungiform taste cells were analyzed by RNA-seq. method. POU2F1, POU2F2, and POU2F3 were expressed in human fungiform taste cells. RNAi-mediated depletion of POU2F3, but not POU2F1 and POU2F2 decreased *TAS1R1* expression. These results suggest that the octamer motif in the *TAS1R1* promoter and POU2F3 play a role in the transcriptional activation of *TAS1R1* promoter.

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

---

---

### 3-PG69 モデルラットを用いた未病における全身機能障害の微小循環解析

---

○東 雅啓<sup>1</sup>, 高橋 聡子<sup>2</sup>, 高橋 俊介<sup>3</sup>, 松尾 雅斗<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神歯大 口腔解剖, <sup>2</sup>神歯大 口腔生理, <sup>3</sup>神歯大 歯科薬理

---

超高齢社会の日本では、高齢者における生活習慣の管理や生活機能の維持により、いかに健康寿命を延ばすかが課題である。近年注目されている「未病」は、健康と病気を連続的に捉え、その変化の過程を表す。未病は高齢者の QOL を低下させ、さらに悪化すると様々な病気を招くことから、その予測・管理が必要であった。そこで本研究では、微小循環解析により未病を評価するために、各種モデルラットを用いて加齢やストレスに伴う全身障害の状態を行動解析および微小循環系解析により検討した。老齢ラット(♂, 17ヶ月令)およびストレス障害ラット(♂, 3週齢に社会的孤立ストレス 8週間)を用いて、オープンフィールドテストおよび高架式十字迷路を用いた行動解析により運動能力を測定(測定時間 10 分間)し、その後サンプリングを行った。口腔周囲や脳などの微小循環に関しては、血管鋳型標本を用いた形態学的解析とレーザードップラー血流計を用いた機能学的解析により検討した。さらには唾液および血液成分についても検討を行った。解析の結果、各モデルラットにおいて総移動距離の低下が認められたほか、歯肉や脳における微小血管における障害が確認でき、唾液および血液においても各種成分の変動が認められた。今後は加齢やストレスによる機能障害を改善することで、今回得られたデータにどのような影響を与えるか分析する。それにより、未病関連因子の予測・管理システムの構築を目指したいと考える。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Microcirculation analysis of systemic dysfunction to evaluate the Mibyou in rat models

---

○To M<sup>1</sup>, Takahashi S<sup>2</sup>, Takahashi SS<sup>3</sup>, Matsuo M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Clin Oral Anat, Kanagawa Dent Univ, <sup>2</sup>Dept Oral Physiol, Kanagawa Dent Univ, <sup>3</sup>Dept Dent Pharmacol, Kanagawa Dent Univ

---

In Japan, an emerging issue faced by the super-aging society is to explore effective ways to extend healthy life expectancy in the elderly by altering their lifestyle and maintaining their functional abilities. "Mibyou" continuously captures health and illness and represents the process of change. Mibyou lowers the quality of life of the elderly; therefore, its prediction and management are crucial before it progresses to a serious illness. This study was conducted to examine the state of systemic disorders due to aging and stress, to evaluate the Mibyou by behavioral and microcirculatory system analyses in various rat models. The motor performance in aged-rats (17-month-old) and stress-impaired rats (3-week-old) was measured using the elevated plus-maze and open-field tests. In addition, microcirculation around the oral cavity and brain was examined by morphological and functional analyses. As a result, a decrease in the total distance traveled was observed in each rat model, which confirmed the disorders in microvessels of the gingiva and brain. However, in the future, we have to investigate whether improving the dysfunction due to aging and stress will affect the data obtained in this study.

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

---



---

### 3-PG70 ヒト小唾液腺における神経伝達物質の分布

---

○佐藤あゆみ, 矢島 健大, 市川 博之, 佐藤 匡

東北大 院歯 口腔器官解剖

---

小唾液腺は口腔の粘膜下層に分布している。口腔粘膜の部位により異なる性状の唾液を分泌することが知られているが、それらの神経支配については不明な点が多い。本研究では、ヒト小唾液腺におけるアセチルコリンの合成酵素 choline acetyltransferase (ChAT)、ノルアドレナリンの合成酵素 dopamine beta-hydroxylase (DBH) 及び tyrosine hydroxylase (TH)、神経ペプチドである vasoactive intestinal polypeptide (VIP)、neuropeptide Y (NPY) の分布を免疫組織化学的に検討した。材料は東北大学歯学部解剖実習で用いたご遺体から採取した。本研究は東北大学倫理委員会の承認を得ている。

ヒト口唇、舌、口蓋の小唾液腺における神経束内及び血管や導管周囲には ChAT, VIP, DBH, TH, NPY を含む神経線維が認められた。多くの血管や導管周囲の神経線維は ChAT, VIP, DBH を含んでいたが、TH, NPY を含む神経線維は比較的まれであった。また腺房周囲においても ChAT, VIP, DBH 陽性神経線維が数多く観察されたが、TH, NPY を含むものはわずかであった。口唇腺の腺房周囲では VIP 陽性神経線維が、エブネル腺では ChAT 陽性神経線維が他の小唾液腺に比べ豊富であった。TH, NPY 陽性神経線維は口蓋腺や舌腺の腺房周囲にわずかに観察されるのみであった。エブネル腺や後舌腺付近の神経細胞は ChAT, VIP, TH 陽性であった。多くの神経細胞が ChAT, VIP を含んでいたが、TH を含むものは非常にまれであった。

以上の結果から、ヒト小唾液腺における血管や腺房は交感神経と副交感神経により支配されていると考えられた。またエブネル腺や後舌腺における一部の ChAT, VIP 陽性神経線維は副交感性的舌内神経節由来であることも示唆される。ヒト小唾液腺における唾液分泌は acetylcholine, catecholamine や神経ペプチドによって調節されていると思われる。

なお本研究は、会員外の東北大学の立谷大介博士との共同研究である。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

#### Distribution of neurotransmitter agents in the human minor salivary glands

---

○Sato A, Yajima T, Ichikawa H, Sato T

Div Oral Craniofac Anat, Tohoku Univ Grad Sch Dent

---

Distributions of choline acetyltransferase (ChAT), vasoactive intestinal polypeptide (VIP), dopamine beta-hydroxylase (DBH), tyrosine hydroxylase (TH) and neuropeptide Y (NPY) were examined in the human minor salivary glands. ChAT-, VIP- and DBH-immunoreactive nerve fibers were detected within nerve bundles and close to blood vessels and salivary ducts in the labial, palatal, lingual and Ebner's glands. Many periacinar nerve fibers contained ChAT- and VIP-immunoreactivity in the Ebner's and palatal glands, respectively. Some TH- and NPY-immunoreactive nerve fibers were also detected in glandular acini of the palatal, lingual and Ebner's glands. In addition, neuronal cell bodies close to the posterior lingual and Ebner's glands were commonly immunoreactive for ChAT and VIP, and rarely for TH. The human minor salivary glands are probably innervated by parasympathetic and sympathetic nerves. Acetylcholine and VIP may regulate secretion of the saliva and its components in the salivary glands. This work was collaborated with Dr. Daisuke Tachiya (non-member of Japanese Association for Oral Biology).

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

---

### 3-PG71 食事性亜鉛欠乏性味覚障害モデル動物の塩味刺激による結合腕傍核および視索上核の神経応答解析

○河野 彰代<sup>1,2</sup>, 乾 千珠子<sup>2</sup>, 脇坂 聡<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>大手前短大 歯科衛生, <sup>2</sup>阪大 院歯 口腔解剖一, <sup>3</sup>関西女子短大 歯科衛生

亜鉛欠乏食で飼養した動物において、塩味に対する閾値の上昇が強く認められることをこれまでに報告した。この動物は通常は忌避される高濃度の塩化ナトリウム溶液を摂取したことから、塩味の受容や情報伝達に異常が生じていた可能性が考えられる。そこで本研究では、亜鉛欠乏が塩化ナトリウム溶液の摂取に及ぼす影響を調べ、行動変化をもたらす神経基盤を調べるために、味覚関連脳部位である結合腕傍核と体液浸透圧関連脳部位である視床下部視索上核の神経活動に及ぼす影響を調べた。SD ラットに生後7週齢から低亜鉛食を4週間与え、食事性亜鉛欠乏性味覚障害モデル動物を作製した(低亜鉛食-雄群, -雌群)。コントロール群は通常飼料で飼養した(通常食-雄群, -雌群)。全ての動物に対し、濃度の異なる塩化ナトリウム溶液(0.03~0.6 M NaCl)を用いて、2ビン選択法および短時間摂取法による行動学的解析を行った。その後、麻酔下にて口腔内に0.1 M または3 M NaCl を3分毎に30分間刺激を与え、その90分後に通常法により灌流固定を行った。免疫組織化学染色を用いて神経活動のマーカーであるc-Fos蛋白質を発現する細胞の同定を行った。2ビン選択法によって、低亜鉛食-雄群の0.3 M NaCl に対する嗜好率は通常食群に比べて有意に高いことが分かった。一方、低亜鉛食-雌群の0.03, 0.3, 0.6 M NaCl に対する嗜好率は通常食群に比べて有意に高かった。また、短時間摂取法によって、低亜鉛食-雄群における1 M NaCl の摂取率が通常食-雄群よりも有意に高いことが示された。低亜鉛食群の結合腕傍核および視索上核におけるc-fos陽性細胞数は通常食群に比べ少ない傾向にあった。またその減少は低濃度刺激よりも高濃度刺激でより強くみられた。これらの結果から、亜鉛欠乏下の塩味に対する味覚異常の原因が結合腕傍核および視索上核における神経活動の低下による可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

### Analysis of neural responses of the parabrachial nucleus and supraoptic nucleus to sodium stimuli in an animal model of zinc deficiency taste disorder

○Kawano A<sup>1,2</sup>, Inui C<sup>2</sup>, Wakisaka S<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Health Sci, Otemae Coll, <sup>2</sup>Dept Oral Anat Dev Biol, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Kansai Women's Coll

It is believed that zinc deficiency causes taste disorder, but it remains unclear why it happens. We previously showed that zinc-deficient rats drank high concentrations of NaCl. Here, to reveal the mechanism of the elevated threshold for NaCl under zinc deficiency, we examined the relationships between sodium consumption behaviors and brain activities. The SD rats were fed a low zinc diet from 7 to 11 weeks old (low-zinc-male group, -female group) or a normal diet (normal-male group, -female group). Their sodium preference and sensitivity were analyzed using two-bottle choice and brief access tests. Both low-zinc groups showed higher sodium preference and sensitivity than the normal groups. After the behavioral experiments, the rats were intraorally presented with NaCl solution. They were perfused 90 min after that, and brain was carefully removed. Immunohistochemical experiments detecting the neural activity marker (c-fos) in these rats demonstrated that neuronal responses in the parabrachial nuclei (PBN) and the supraoptic nucleus (SON) for fluid regulation-related areas tended to decrease compared to those in the normal-male and -female groups. These results suggest that disorders of sodium sensitivity induced by zinc deficiency may be caused by decreased neural activity in the PBN and the SON.

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

---

### 3-PG72 カリオフェリンを介した IL-1 $\alpha$ の核移行メカニズムの解明

---

○山本安希子, 和氣 清尊, 角田麻里子, 福井 怜, 浅野 正岳

日大 歯 病理

IL-1 $\alpha$  は種々の細胞に対して多様な効果を示す分子であり, 関節リウマチやアルツハイマー病, 全身性硬化症をはじめとする様々な自己免疫疾患および炎症関連疾患に寄与することが知られている. その具体的な機能として, 傷害あるいは壊死した細胞から放出し, 周囲に炎症を惹起するアラミンとして働くことが明らかになってきた. 一方で, IL-1 $\alpha$  は細胞内において主に核に局在していることから, 核内においても重要な働きを担っていると考えられており, これまでに IL-6 や IL-8 の発現を調節していることが報告されている. しかしながら, 細胞質で合成された IL-1 $\alpha$  がどのように核へ移行するのか, その制御機構の詳細は不明である.

通常, 核膜孔を通過できない高分子量を有するタンパク質は, 核移行シグナルを介してカリオフィェリン分子群による輸送が行われている. IL-1 $\alpha$  は核膜孔を受動的に拡散できる低分子量を有するタンパク質であるものの, 核移行シグナルを有していることから, カリオフェリン分子群による制御を受けていることが示唆される. そこで, 本研究ではカリオフィェリン分子群による IL-1 $\alpha$  の核移行の分子メカニズムを解明することを目的とした解析を行った.

その結果, 複数存在するカリオフィェリン分子群のうち, IL-1 $\alpha$  と特異的に相互作用する分子種が明らかになった. さらに, カリオフェリン分子を介した IL-1 $\alpha$  の核移行が classical な輸送様式でない可能性を示唆する結果が得られた. この興味深い結果について確証を得るため, 今後より詳細な検討を加えていく予定である.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

### Analysis of the regulatory mechanisms of nuclear transport of IL-1 $\alpha$

---

○Yamamoto A, Wake K, Tsunoda M, Fukui R, Asano M

Dept Pathol, Nihon Univ Sch Dent

IL-1 $\alpha$  is a molecule that is known to contribute to various autoimmune and inflammation-related diseases, including rheumatoid arthritis, Alzheimer's disease, and systemic sclerosis. IL-1 $\alpha$  has been shown to act as an alarmin that is released from injured or necrotic cells and induces sterile inflammation. On the other hand, since IL-1 $\alpha$  is mainly localized to the nucleus in cells, it is thought to play an important role in the nucleus as well, and has been reported to regulate the expression of IL-6 and IL-8. However, the mechanisms how IL-1 $\alpha$  is translocated to the nucleus remain unclear.

Although IL-1 $\alpha$  is a low-molecular-weight molecule that can passively diffuse through the nuclear pore complex, IL-1 $\alpha$  has a nuclear localization signal, suggesting that IL-1 $\alpha$  is regulated by the karyopherin-family. Therefore, in this study, we analyzed the molecular mechanisms of nuclear translocation of IL-1 $\alpha$  by the karyopherins.

The results of this study revealed that among the several members of the karyopherin-family, the karyopherin isoform that specifically interacts with IL-1 $\alpha$  was identified. Furthermore, our results suggest that karyopherin-dependent nuclear translocation of IL-1 $\alpha$  might not be regulated by the classical nuclear transport systems.

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

---

---

### 3-PG73 Rab44 タンパク質による炎症応答制御機構

---

○門脇 知子<sup>1</sup>, 山口 優<sup>2</sup>, 佐藤 啓子<sup>1</sup>, 筑波 隆幸<sup>2</sup>

<sup>1</sup>長大 院医歯薬 フロンティア口腔, <sup>2</sup>長大 院医歯薬 歯科薬理

---

**【目的】** 歯科治療では、様々な金属材料を使用する場面が多く、重要なツールである一方で、これが原因で生じるアレルギー性病変も問題となっている。難治性湿疹の要因ともなる金属アレルギーの病変を改善するには、その免疫学的機序や発症メカニズムを理解し、制御する必要がある。Rab タンパク質は細胞内小胞輸送の制御因子である。一般的な Rab は 20~30kDa 程の低分子量 G タンパク質であるが、Rab44 は Rab ドメイン以外に複数のドメインを有する高分子量 G タンパク質である。本研究では、Rab44 の金属アレルギーなどの炎症応答における役割を調べた。

**【方法】** *In vivo* の実験として C57BL/6 野生型マウスと Rab44 ノックアウト (KO) マウスを使って実験的金属アレルギーと敗血症の誘導実験を行った。 *In vitro* 実験としては、ヒト単核性白血病細胞株 THP-1 を用いて M1 および M2 マクロファージの分化誘導を行った。

**【結果】** *In vivo* 金属アレルギーモデルとして、マウスをニッケル (Ni) 感作後、低濃度ニッケル水溶液を飲ませた。野生型では Ni 投与により顆粒球の増加がみられたが、Rab44 KO マウスでは顆粒球の増加はみられなかった。この時、血漿中 IL-1 $\beta$  濃度も、KO マウスでは野生型に比べて低かった。LPS による敗血症モデルにおいても、KO マウスは TNF- $\alpha$  や IL-10 などのサイトカイン産生が有意に抑制されており、末梢血中の白血球像が野生型のものとは異なっていた。THP-1 に IFN- $\gamma$ /LPS を作用させ M1 へ、また IL-4/IL-13 により M2 へ分化誘導すると、いずれの場合もマーカー分子の発現に先行して Rab44 の一過性の発現上昇がみられた。

**【結論】** Rab44 は炎症応答における細胞分化やサイトカイン産生に関与することが示唆された。(会員外共同研究者：野黒美麻由子)

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Regulatory mechanisms of inflammatory responses by Rab44 protein

---

○Kadowaki T<sup>1</sup>, Yamaguchi Y<sup>2</sup>, Sato K<sup>1</sup>, Tsukuba T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Front Oral Sci, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ, <sup>2</sup>Dept Dent Pharmacol, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ

---

**Purpose:** Metal materials are used in many situations in dental treatments. While they are important tools, they sometimes cause allergy. Rab proteins are regulators of intracellular vesicle trafficking. Typical Rab is a low molecular weight G protein of about 20-30 kDa, whereas Rab44 is a high molecular weight G protein with multiple domains. In this study, we investigated the role of Rab44 in inflammatory responses such as metal allergy.

**Materials & Methods:** C57BL/6 wild-type mice and Rab44 knockout (KO) mice were orally administrated by low-dose Ni as an *in vivo* model of metal allergy. Human monocytic leukemia cell line, THP-1, was induced differentiation of M1 and M2 macrophages by cytokine treatment.

**Results:** The wild-type mice showed an increase in granulocytes after Ni administration, whereas Rab44 KO mice did not. In the LPS-induced sepsis model, KO mice also showed significantly reduced cytokine production, and the leukocyte profile in the peripheral blood was different from that of the wild type. Upon induction of M1 or M2 differentiation of THP-1 cells, transient upregulation of Rab44 expression preceded the expression of marker molecules.

**Conclusion:** Rab44 is involved in cell differentiation and cytokine production in inflammatory responses. (Non-member collaborator; Noguromi M.)

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

---



### 3-PG74 *P. gingivalis* LPS 誘導性糖尿病モデルマウス腎での SGLT2 過剰発現について

○梶原弘一郎<sup>1</sup>, 沢 禎彦<sup>2</sup>

<sup>1</sup>福歯大 矯正, <sup>2</sup>岡大 院医歯薬

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系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。

#### Overexpression of SGLT2 in the kidney of a *P. gingivalis* LPS-induced diabetic nephropathy mouse model

○Kajiwara K<sup>1</sup>, Sawa Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Orthodont, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Dept Oral Funct Anat, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

The overexpression of sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) in diabetic kidneys has been reported. The present study aims to examine the renal SGLT2 induction by the TLR2/4 ligand (*P.* *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). In the quantitative analysis of blood sugar levels, the mean time to reach 600 mg/dl was shorter in the LPS-STZ than in the STZ-ICR kidneys. 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-PG75 ラットの食塩に対する味神経応答はその溶液の粘度の大きさに依存して抑制される

---

○前田知馨代<sup>1</sup>, 中村 文彦<sup>2</sup>, 安尾 敏明<sup>2</sup>, 諏訪部 武<sup>2</sup>, 岩瀬 陽子<sup>1</sup>, 玄 景華<sup>1</sup>, 碓 哲崇<sup>2</sup>

<sup>1</sup>朝日大 歯 口腔病態医療 障害者歯科, <sup>2</sup>朝日大 歯 口腔機能修復 口腔生理

---

【目的】摂食嚥下障害者には、誤嚥のリスクを減らすために食品に増粘剤を添加し提供することがある。我々は、昨年の大会で、各種増粘剤を基本味溶液に添加したものを味溶液としてラット舌に作用させ、その鼓索神経応答を記録したところ、塩味溶液への粘性の付与が、その塩味応答を強く抑制させることを示した。このように塩味への粘度の付与が味応答を抑制するならば、患者は、これらの粘性付与食品の塩味を実際の食品の塩濃度の塩味より弱く感じている可能性があり、臨床上也大きな問題をはらんでいることになる。そこで、本研究では、増粘剤添加による塩味応答の抑制が、その増粘剤の濃度（粘度）と関係するかどうかをラットを用いた電気生理学的手法により検討した。【方法】実験には雄性 Wistar/ST ラット（8 週齢）を用い、通報に従い舌を味刺激した際の左側鼓索神経束応答を記録した。味刺激には、昨年度報告した増粘剤のうち特に塩味を強く抑制した市販増粘剤を用い、この増粘剤を「摂食・嚥下リハビリテーション学会分類 2013（とろみ）早見表」をもとに薄とろみ、中間とろみ、濃いとろみとしたものを、0.1M NaCl に混合して用いた。【結果および結論】0.1M NaCl に対するラット鼓索神経応答は、添加される増粘剤の粘度（濃度）が大きくなるほど、より強く抑制された。このことから、味物質への増粘剤添加による味応答抑制は、添加される増粘剤の粘度（濃度）に依存し、その抑制は味覚受容器レベルで発生していることが推測された。この事実は、市販増粘剤で粘性を付与した食品を患者に提供する際には、その塩味強度を実際に含有している食塩濃度より弱く感じていること、また、その粘度が高いほどより弱く感じていることを示唆するものであり、临床上、これらの増粘剤の使用時には多大な注意を払う必要がある。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

### Taste nerve response to NaCl is suppressed depends on magnitude of viscosity of the stimulus in rats

---

○Maeda C<sup>1</sup>, Nakamura F<sup>2</sup>, Yasuo T<sup>2</sup>, Suwabe T<sup>2</sup>, Iwase Y<sup>1</sup>, Gen K<sup>1</sup>, Sako N<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent for Disabil & Oral Health, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent

---

It is one of the general clinical methods that viscous foods mixed with thickeners are served to patients with dysphagia. Our previous presentation demonstrated that some thickeners suppressed the taste nerve responses to salty taste by their mixing. In the present study, we investigated whether the suppression was depended on the magnitude of viscosity of mixed thickener by using electrophysiological method in rats. As taste stimuli, 3 different viscous (concentration) solution adjusted by mixing a commercial thickener with 0.1M NaCl. As a result, suppression of the chorda tympani nerve responses was elicited depend on the magnitude of viscosity of the stimulus. This result suggests that the magnitude of salty taste is suppressed by mixing of thickener, and that this suppression depends on the magnitude of viscosity of the mixed thickener.

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

---

---

### 3-PG76 口腔領域の嚢胞性疾患におけるアメロジェニンの発現

---

○殷 傑, 岡村 友玄, 池田千浦子, 富永 和也  
大歯大 口腔病理

【背景】 歯周組織の再生を目的として研究を行っていたところ、アメロジェニンのエクソン5が硬組織形成に重要な役割を担っていることが明らかになった。そこで、この部分に対するモノクローナル抗体 (Ab) を作製した。Ab を用いて、ラット組織に免疫組織化学的染色を行うと、歯原性上皮が反応するが、ヒト組織に対する反応は検討していない。本研究では、ヒトの嚢胞性疾患に対する Ab の反応性を観察し、アメロジェニンの発現について観察し、考察した。【方法】 大歯大附属病院で病理組織診断された嚢胞性疾患のうち、歯根嚢胞、含歯性嚢胞、正角化性歯原性嚢胞、歯原性角化嚢胞、単嚢胞型エナメル上皮腫、類皮嚢胞および類表皮嚢胞の7疾患を観察対象とし、大歯大 医の倫理委員会の承認 (大歯医倫 第111204-0号) を得て、Ab を用いて免疫組織学的に染色した。【結果と考察】 一部の含歯性嚢胞と正角化性歯原性嚢胞との裏層上皮には Ab の反応が認められたが、歯根嚢胞、歯原性角化嚢胞および類表皮嚢胞の裏層上皮には Ab の反応が認められなかった。類皮嚢胞の裏層上皮では基底細胞と毛包に Ab の反応が検出された。単嚢胞型エナメル上皮腫の上皮成分の多くは陰性であったが、ごく一部に Ab の反応が検出された。アメロジェニンの遺伝子配列は動物種間の相同性が高いので、種を越えて重要な役割を演じているものと考えられているが、歯原性上皮由来と思われる嚢胞性疾患の裏層上皮に Ab は検出されないものが多かった。類皮嚢胞と類表皮嚢胞とは類似の病変として扱われているが、類表皮嚢胞の裏層上皮に Ab が検出されなかったのに対し、類皮嚢胞の裏層上皮では陽性を示した。アメロジェニンが皮膚に発現するという報告があるので、類似病変と考えられている類皮嚢胞と類表皮嚢胞との裏層上皮の性格は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。

---

#### The expression of amelogenin in oral cystic lesions

---

○Yin J, Okamura T, Ikeda C, Tominaga K  
Dept Oral Pathol, Osaka Dent Univ

Previous studies showed that amelogenin exon five played some important roles in the life phenomenon. Mouse monoclonal antibody for amelogenin exon five (Ab) was made, the Ab reacted to the odontogenic epithelium in rat. In this study, seven sorts of human oral cystic lesions; radicular cysts, dentigerous cysts, orthokeratinized odontogenic cysts, odontogenic keratocysts, unicystic ameloblastomas, dermoid cysts, and epidermoid cysts were histochemically stained using Ab. The expression of amelogenin is not observed in the lining epithelium of most cystic lesions, except dermoid cysts, a parts of dentigerous cysts, orthokeratinized odontogenic cysts and unicystic ameloblastomas, whereas the lining epithelia of radicular cysts, dentigerous cysts, orthokeratinized odontogenic cysts, odontogenic keratocysts, and unicystic ameloblastomas are said to derive from the odontogenic epithelium. It is considered that dermoid cyst and epidermoid cyst treat as the similar lesions. The lining epithelium of dermoid cyst reacted to Ab, but epidermoid cyst dose not. It was suggested that dermoid cyst and epidermoid cyst were different in their character due to existence a research, amelogenin expressed in the dermis.

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

---

### 3-PG77 デスモソーム蛋白 desmoglein 3 欠損がケラチノサイトに及ぼす影響の解析

○小川 修平<sup>1</sup>, 大谷 崇仁<sup>2</sup>, 緒方佳代子<sup>2</sup>, 稲井哲一朗<sup>2</sup>

<sup>1</sup>福歯大 冠橋義歯, <sup>2</sup>福歯大 機能構造

**目的:** デスモソーム蛋白 desmoglein (DSG) 3 を破壊したマウスケラチノサイト株 K38 を 2 次元および 3 次元培養して, その影響を解析して DSG3 の機能を調べる. **材料と方法:** DSG3 遺伝子に対する特異的 gRNA を挿入したゲノム編集ベクター PX459 を, マウスケラチノサイト株 K38 に Nucleofection し, Puromycin で薬剤選択して DSG3 遺伝子を破壊した安定株 DSG3KO を樹立した. DSG3KO を 3 次元培養して, 形態を HE 染色で, 細胞間接着蛋白の局在を蛍光免疫染色で調べた. 3 次元培養は, 細胞を 24-well cell culture insert の膜上に直接播種し, confluent を確認後 3D 培地にて 10 日間気液界面培養を行った後に各解析を行った. 角化を誘導するために pan-RAR inverse agonist である BMS 493 を添加した. また, 2 次元培養にて, 細胞間接着蛋白の局在を蛍光免疫染色, 蛋白発現量をウエスタンブロット解析で解析した. **結果と結論:** 尋常性天疱瘡は DSG3 に対する自己抗体が原因とされ基底層直上で重層扁平上皮が剥離するが, 同様の所見が 3 次元培養で見られた. 2 次元培養で 1.2 mM Ca 添加 24 時間で, DSGKO において, DSG1, DSG2 は細胞接着部位の局在が減少し, 蛋白発現量も減少した. しかし, アドヘレンス結合膜タンパク E-cadherin の局在と蛋白発現量に大きな変化はなかった. DSG3KO において, タイト結合膜蛋白 occludin, claudin (CLDN) 4, 7 は細胞接着部位の局在が減少したが, 蛋白発現量に大きな変化はなかった. CLDN1 は野生型 (WT) でも細胞接着部位に均一に局在しておらず, DSG3KO でも大きな変化はなかった. CLDN6 は, 細胞接着部位の局在が減少し, 蛋白発現量も減少した. 以上の結果から, DSG3 の発現の欠失は 3 次元培養で再構築した重層扁平上皮の基底層直上での剥離をもたらすことが分かった. 2 次元培養では, DSG3 の発現の欠失はアドヘレンス結合形成には影響しないが, デスモソームおよびタイト結合形成を阻害することがわかった.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

#### Analysis of the effects of desmoglein 3 deficiency on keratinocytes

○Ogawa S<sup>1</sup>, Otani T<sup>2</sup>, Ogata K<sup>2</sup>, Inai T<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Div Fixed Prosthodont, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll

The purpose of this study is to investigate the function of one of the desmosome proteins, desmoglein (DSG) 3, by using the mouse keratinocyte strain K38, in which DSG 3 is disrupted, in two- and three-dimensional cell cultures. The keratinized stratified squamous epithelium reconstructed by the three-dimensional culture of DSG3-disrupted cells had the epithelium exfoliated just above the basal layer and resembled pemphigus vulgaris. In two-dimensional culture, DSG1, DSG2, and tight junction membrane protein claudin (CLDN) 6 decreased the localization of cell-cell contact sites and the protein expression level. On the other hand, occludin and CLDN 4 and 7 decreased the localization of cell-cell contact sites, but the protein expression level did not change. There were no significant changes in the localization of cell-cell contact sites and the protein expression level of the adherens junction membrane protein E-cadherin. From the above results, we found that DSG3 is involved in the formation of tight junctions and desmosomes, but does not in the formation of adherens junction. We also found DSG3-disrupted cells have the ability to form pemphigus vulgaris-like epithelium.

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



### 3-PG78 Artepillin C および Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) による IL-2 産生促進作用の比較

○高橋 萌<sup>1</sup>, 神谷 真子<sup>3</sup>, 池野久美子<sup>4</sup>, 上野 恭平<sup>2</sup>, 梅村 直樹<sup>2</sup>, 高山 英次<sup>2</sup>,  
川木 晴美<sup>2</sup>, 中村源次郎<sup>4</sup>, 村松 泰徳<sup>1</sup>, 近藤 信夫<sup>2</sup>

<sup>1</sup>朝日大 歯 口外, <sup>2</sup>朝日大 歯 口腔生化, <sup>3</sup>朝日大 営 化学, <sup>4</sup>株式会社 秋田屋本店  
研究開発

我々は既にブラジル産グリーンプロポリス(BGP)が抗 CD3 抗体刺激マウス脾細胞の IL-2 産生を顕著に促進することを見出し, この作用には artepillin C がストア制御性 Ca<sup>2+</sup> +チャンネルの一つである TRPA1 の制御を介し, 翻訳レベルで関与することを突き止めた (Tsuruta H, *J Oral Biosci* 印刷中). 一方, 中国産プロポリス (CP) においても, 主要成分の一つである Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) が, 抗 CD3 抗体刺激マウス脾細胞の IL-2 産生を促進することを見出している (本学会にて安藤らが発表). 本研究では, これらプロポリスの IL-2 産生促進機構を比較検討した. 20 週齢 C3H マウス脾細胞に占める T 細胞部分画をナイロンウールファイバーカラムにより分離し, artepillin C または CAPE 存在下で抗 CD3 抗体刺激培養を行ったところ, コントロールの脾細胞に比べ, artepillin C 存在下における IL-2 産生は精製した実験群では顕著に抑制されていた. 一方, CAPE 存在下で刺激培養を行った実験群の IL-2 産生は, T 細胞のみの分画においてもコントロールの脾細胞群と同様の高い促進が観察され, その作用は, TRPA1 カルシウムチャンネル特異的阻害剤の HC030031 添加により顕著に抑制された. これに対して artepillin C および CAPE 非存在下での IL-2 産生は, 精製した T 細胞分画を抗体刺激しても, 刺激脾細胞のそれに比べ有意に低いまだだった. 以上の事実から, CAPE による抗体刺激脾細胞の IL-2 産生促進作用は, カルシウムチャンネルの働きに依存し, T 細胞分画のみで十分発揮されるのに対して, artepillin C による同様の IL-2 産生促進作用は, 刺激後の T 細胞のみならず, T 細胞以外の, おそらく B 細胞を中心とした脾細胞分画との相互作用を必要と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.

### Comparison of enhanced IL-2 productions from anti-CD3 antibody-stimulated mouse spleen cells treated with Artepillin C or caffeic acid phenethyl ester (CAPE)

○Takahashi M<sup>1</sup>, Kamiya M<sup>3</sup>, Ikeno K<sup>4</sup>, Ueno K<sup>2</sup>, Umemura N<sup>2</sup>, Takayama E<sup>2</sup>, Kawaki H<sup>2</sup>,  
Nakamura G<sup>4</sup>, Muramatsu Y<sup>1</sup>, Kondoh N<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent,

<sup>3</sup>Dept Chem, Asahi Univ Sch Business Admin, <sup>4</sup>Dept. R&D., Akitaya Head Office Co., Ltd

Artepillin C, a major component of Brazilian green propolis, can enhance IL-2 production from the anti-CD3 antibody-stimulated spleen cells (Tsuruta H, *J Oral Biosci*, in press). We have also demonstrated that the production of IL-2 was markedly enhanced in the highly viable stimulated spleen cells treated with CAPE, one of the major components of Chinese propolis. In this report we attempted to compare mechanisms of the augmentation of IL-2 production by artepillin C and CAPE in antibody-stimulated spleen cells. We first isolated T cell fraction from spleen cells extracted from 20 weeks old male C3H mice using nylon wool fiber column. In the presence of CAPE, the production IL-2 from the antibody-stimulated purified T cells was significantly high levels as comparable to that of the stimulated spleen cells. By contrast, even in the presence of artepillin C, IL-2 production from the stimulated T cells was significantly reduced compared to that in the stimulated spleen cells. Our results suggest that CAPE can enhance IL-2 production from the stimulated T cells, per se, without other cell fractions. However, the enhancement of IL-2 production exerted by artepillin C required other cell fractions than T cells among the spleen cells.

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

---

### 3-PG79 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* の酸性環境での発現遺伝子の動態

---

○桑原 紀子<sup>1</sup>, 平塚 浩一<sup>2</sup>, 齋藤 真規<sup>1</sup>, 田中 陽子<sup>3</sup>, 瀧澤 智美<sup>1</sup>, 小林 良喜<sup>1</sup>,  
泉福 英信<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日大松戸歯 感染免疫, <sup>2</sup>日大松戸歯 生化・分子生物, <sup>3</sup>日大松戸歯 障害者歯

---

口腔内環境の変化に対し, 侵襲性歯周炎の主要な病原細菌と考えられている *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* の遺伝子発現に及ぼす影響についてマイクロアレイ解析により網羅的に検討している. 今回, 口腔内の環境が酸性に傾いた場合を想定した条件で *A. actinomycetemcomitans* の遺伝子発現量の変動について検討した. *A. actinomycetemcomitans* HK1651 株を使用した. pH7.5 をコントロール, pH5.0 を酸性条件として緩衝液にそれぞれ懸濁した後, total RNA を抽出, rRNA を除去した RNA サンプルを精製した. 全遺伝子発現量の検討は全ゲノム情報から作成したカスタムアレイを用いて行った. コントロールに対して発現量が2倍以上変動した遺伝子を検討の対象としてリスト化した. 発現量が増加した遺伝子については, Real-time PCR にて確認した. コントロールに対して, 発現量が2倍以上増加した遺伝子数は473, 減少したのは474であった. 発現量の変動が見られた遺伝子の中には鉄結合タンパクやシャペロニン, メチル基転移酵素などをコードする遺伝子が含まれていた. 主要な *A. actinomycetemcomitans* の病原因子である線毛, 白血球毒素, 細胞膨化致死毒素をコードする遺伝子について検索したところ, 遺伝子の発現量に大きな変化は見られなかった. 歯肉溝内の pH は歯周病原細菌の病原性に影響しており, 歯周疾患の発症や進行を制御する可能性がある. 今回, ヒト歯肉溝内における酸性環境の調節が歯周病予防に重要であることが示唆された.

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません.

---

### Influence on gene expression of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in low pH condition

---

○Kawahara-Shinozaki N<sup>1</sup>, Hiratsuka K<sup>2</sup>, Saito M<sup>1</sup>, Tanaka Y<sup>3</sup>, Takizawa-Hashizume T<sup>1</sup>,  
Kobayashi R<sup>1</sup>, Senpuku H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>2</sup>Dept Biochem Mol Biol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>3</sup>Dept Spec Needs Dent, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

---

The pH in the gingival sulcus is associated with change depending on the oral condition of host. The aim of this study is to investigate the effects of low pH condition on their transcripts of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, which is considered to be one of the periodontal pathogens. *A. actinomycetemcomitans* HK1651 were cultured anaerobically in Brain Heart Infusion broth and mRNA-rich sample was prepared from total RNA. These samples were subjected to microarray analysis using custom made array. *A. actinomycetemcomitans* would be influenced by gene expression level 947 genes, 473 upregulated and 474 downregulated, using filtering criterion of two-fold change by microarray analysis. Among these, methyltransferase, ferric iron binding protein, and chaperone protein genes were included and toxigenic associated transcripts, such as ltxA and cdtA were not included. These gene expressions were confirmed by real-time PCR analysis. The low pH in the gingival sulcus affects the gene expression levels of *A. actinomycetemcomitans*. This may suggest that the control of pH condition is important for the prevention of periodontal disease.

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

---

### 3-PG80 喉頭部の味蕾様構造における陰イオンチャネル発現

○徐 嘉鍵, 中富 千尋, 氏原 泉, 小野堅太郎

九歯大 生理

水嚥下反射において咽頭喉頭部での水受容機構については不明である。最近の知見では、喉頭部の味蕾様構造からの ATP 放出による嚥下誘発神経の活性化が報告されている。一方で、水嚥下は NaCl, 特に Cl<sup>-</sup>により抑制作用を受けることが古くから知られている。細胞外への水刺激は Cl<sup>-</sup>チャネルから Cl<sup>-</sup>の流出により細胞を脱分極させる。そこで我々は、喉頭部味蕾様構造における Cl<sup>-</sup>チャネル発現が水受容に関与するとの仮説を立てた。本研究では、ラット喉頭蓋披裂ヒダ (アルテノイド) における味蕾様構造での塩化物イオンチャネル ClC 発現について検討を行った。ラット喉頭蓋披裂ヒダにおける RT-PCR 解析において、ClC ファミリーの中で ClC-3 が最も高発現していた。咽頭喉頭部の凍結切片を作製し、味細胞非特異的マーカーである CK8, 味細胞 2 型マーカーであるガストデュージン, 味細胞 3 型マーカーおよび神経線維マーカーである PGP-9.5, 味細胞 3 型特異的マーカー CA4 で蛍光染色したところ、喉頭蓋披裂ヒダに免疫陽性の味蕾様構造を確認した。ClC-3 蛍光染色では粘膜上皮全体に陽性像を認めた。さらに、CK8 と ClC-3 との蛍光免疫 2 重染色を行ったところ、CK-8 陽性の味蕾様構造物の味孔相当領域に ClC-3 の強い陽性像を認めた。我々は以前の研究により咽頭喉頭部の界面活性剤処理により水嚥下が強く抑制されることを見出している。そこで、Triton-X 処理後の喉頭蓋披裂ヒダ切片で ClC-3 蛍光染色を行ったところ、味孔相当領域の ClC-3 陽性像が消失していた。以上の実験結果により、喉頭蓋披裂ヒダの味蕾様構造物における ClC-3 発現が水嚥下における水受容に関与していることが示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

### The expression of anionic channel in laryngeal taste-bud like structure

○Hsu C, Nakatomi C, Ujihara I, Ono K

Div Physiol, Kyushu Dent Univ

The reception mechanism of water-stimulated swallowing reflex in the pharyngolaryngeal region is still unknown. Recent findings suggest that the swallowing-evoked nerves was triggered by the release of ATP from taste bud-like structures in the laryngeal region. It has long been known that water swallowing is inhibited by NaCl, especially Cl<sup>-</sup>. The water sensitive cells were depolarized by leaking Cl<sup>-</sup> from Cl<sup>-</sup> channels. Therefore, we hypothesized that Cl<sup>-</sup> channels in laryngeal taste bud-like structures is involved in water reception. In RT-PCR analysis, ClC-3, chloride ion channel was most abundant expressed in rat arytenoids. In immunofluorescence staining, CK8 (a taste cell marker), gustducin (a type II taste cell marker), PGP-9.5 (a nerve fiber marker), and CA4 (a type III taste cell marker) positive signals were identified in taste bud-like structures. ClC-3 fluorescence positive signal was identified throughout the laryngeal epithelium. In addition, CK8 positive cells also strongly expressed ClC-3 in the taste pore region. We have found that surfactant treatment of the pharyngeal larynx strongly suppressed water swallowing. Therefore, we performed ClC-3 fluorescence staining of arytenoids after Triton-X treatment. ClC-3 immunopositive signal was disappeared in the taste pore. These results suggest that ClC-3 in taste bud-like structures in arytenoids is involved in water swallowing reception.

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

---

### 3-PG81 小学生児童の味覚検査と嗜好の関連性

---

○佐伯 周子<sup>1</sup>, 井出 良治<sup>1</sup>, 橋爪 那奈<sup>1</sup>, 河内 嘉道<sup>1,2</sup>, 石井 広志<sup>2</sup>

<sup>1</sup>日歯大 生命歯 生理, <sup>2</sup>市川市歯科医師会

【緒言】千葉県市川市教育委員会主催の小学校児童を対象とした味覚検査（甘味と塩味の認知検査）に検査液の嗜好調査（「おいしかった」「まずかった」「どちらでもない」）と嗜好アンケート調査（甘い物と塩っぱい物に関する好き嫌い等）を加え、味覚検査の結果に嗜好が与える影響を検討した。【方法】2021年9~12月（昼前）、5-6年児童（男児224名、女児232名、計456名）を対象に全口腔法の味覚検査をショ糖水と食塩水の順で各々3濃度（16, 31-2及び47-8 mM）、薄い順に検査した。味は選択肢5種：「水と同じ」、「水とちがう」、「あまい味」、「塩っぱい味」及び「どれでもない」、嗜好は選択肢3種：「おいしかった」、「まずかった」及び「どちらでもない」を用意し1つずつ選択させた。【結果】最高濃度での正答群と誤答群は、ショ糖水で各々338名（男161、女177）と118名（男63、女55）、食塩水で各々394名（男189、女205）と62名（男35、女27）だった。甘味正答群の43%（男55%、女32%）と同誤答群の26%（男32%、女20%）は「（ショ糖水は）おいしかった」、塩味正答群の9%（男11%、女7%）と同誤答群の12%（男と女12%）は「（食塩水は）おいしかった」と回答し、甘味正答群の34%（男27%、女40%）と同誤答群の43%（男43%、女44%）は「（ショ糖水は）まずかった」、塩味正答群の77%（男78%、女76%）と同誤答群の68%（男62%、女77%）は「（食塩水は）まずかった」と回答した。嗜好アンケートで甘い物と塩っぱい物が「きらい」なのは3-15%程度だった。【考察】今回の結果から、日常の嗜好とは別に、児童が味覚検査で味を認知する過程には検査時の味の印象（嗜好）が介入しやすい味（甘味）と介入しにくい味（塩味）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。

---

### Gustatory test and taste preference in schoolchildren

---

○Saiki C<sup>1</sup>, Ide R<sup>1</sup>, Hashizume N<sup>1</sup>, Kawauchi Y<sup>1,2</sup>, Ishii H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Physiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, <sup>2</sup>Ichikawa Dent Assoc

Aims: At whole mouth gustatory test (sweet and salty tastes) in public elementary schoolchildren, we added taste preference examination on each test solution. Methods: Subjects, who were public schoolchildren (aged 11-12, n=456) in Ichikawa City, Chiba Prefecture, were asked to taste sucrose solution then NaCl solution (both dissolved in water) and choose 1) one of five options; water, not water, sweet, salty, and neither, 2) one of three options; taste good, taste bad, and neither. Results: For sucrose solution (48 mM), 338 children chose sweet and 43% of them chose taste good, and 118 children chose other options and 26% of them chose taste good. For NaCl solution (47 mM), 394 children chose salty and 9% of them chose taste good and 62 children chose other options and 12% of them chose taste good. At questionnaire on the taste preference, only 3-15% of the children indicated they don't like sweet or salty foods. Conclusion: Our results suggest that responses to whole mouth gustatory test of schoolchildren, in particular on sweet taste, are affected by taste preference of the test solutions at the examination.

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

---



---

### 3-PG82 ビタミン C 欠乏状態における酸味受容体の mRNA 発現と酸味溶液に対するリッキング応答

---

○安尾 敏明, 中村 文彦, 諏訪部 武, 高橋 慎平, 裕 哲崇

朝日大 歯 口腔機能修復 口腔生理

---

我々はこれまでに、ビタミン C (VC) 合成能を持たない ODS/shiJcl-od/od ラットにおいて、VC 欠乏時に食欲不振 (体重減少) や飲水量減少が生じるが、VC 摂取量は増加し、酸に対する鼓索神経応答が低下することを報告してきた (Yasuo et al., 2019)。しかし、これらの現象がなぜ起こるのか、その理由はまだ解明されていない。本研究では、これらのラットを用いて酸味溶液 (0.1-100 mM VC, クエン酸, 酢酸, 酒石酸及び塩酸) に対する 10 秒間のリック率 [各種溶液の舐めた数] / (DW の舐めた数) × 100 (%) を測定し、茸状乳頭味細胞における酸味受容体 [Otopetrin-1 (Otop1), hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel (Hcn) 1, Hcn4, acid-sensing ion channel-2 (Asic2)] の mRNA 発現を分析した。リックテストは、VC 充足状態で試験 1 を行い、VC 欠乏状態へ移行させて試験 2 を行い、その後、VC を再摂取させ VC 欠乏状態から回復させて試験 3 を行った。また、これらのラットを VC 欠乏群と VC 充足群のいずれかに振り分け、両群の酸味受容体の発現量を比較解析した。その結果、これら全ての酸味溶液に対するリック率は、試験-2 が試験-1, 試験-3 よりも有意に高かった。また、これら酸味受容体の mRNA 発現量には、両群間に有意な差はなかった。これらの結果から、VC 欠乏は酸味溶液に対するリッキング応答を低下させるが、これは茸状乳頭味細胞に発現する酸味受容体に起因するものではない可能性が示唆された。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### mRNA expression of sour taste receptors and lick rate responses to sour taste solutions in vitamin C-deficient condition

---

○Yasuo T, Nakamura F, Suwabe T, Takahashi S, Sako N

Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent

---

We have previously reported that in ODS/shiJcl-od/od rats, which lack the ability to synthesize vitamin C (VC), VC intake is elevated during VC deficiency, and decreased chorda tympani nerve responses to acids. However, the reasons for these phenomena have not been clarified yet. In the present study, we measured 10-sec lick rates to sour taste solutions in these rats and analyzed the mRNA expression of sour taste receptors [Otopetrin-1 (Otop1), hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel (Hcn) 1, Hcn4, and acid-sensing ion channel-2 (Asic2)] in fungiform papillae taste cells. Three lick tests were performed: under VC-sufficient condition (test-1), VC-deficient condition (test-2), and after VC was restored (test-3). These rats were assigned to either a VC-deficient group or a replete group, and the expression levels of sour taste receptors of both groups were analyzed. The results showed that the lick rates of sour taste solutions were significantly higher in test-2 than in test-1 and test-3. In addition, there were no significant differences in mRNA expression levels of the sour taste receptors between the two groups. These results suggest that VC deficiency may reduce the licking response to acids, but that this may not be due to sour taste receptors in fungiform papillae taste cells.

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

---

### 3-PG83 エナメル上皮細胞の上皮間葉転換に及ぼす TGF- $\beta$ アイソフォームの応答性

○宮川 友里<sup>1,2</sup>, 唐木田丈夫<sup>2</sup>, 大熊理紗子<sup>2</sup>, 山本 竜司<sup>2</sup>, 小林 冴子<sup>1</sup>, 朝田 芳信<sup>1</sup>,  
山越 康雄<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鶴大 歯 小児歯, <sup>2</sup>鶴大 歯 生化

トランスフォーミング増殖因子ベータ (TGF- $\beta$ ) は, 体内のさまざまな細胞によって産生される生理活性物質の 1 つであり, 哺乳類では 3 種類のアイソフォーム (TGF- $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 3) が知られている。【目的】本研究は, エナメル上皮細胞の上皮間葉転換 (EMT) に及ぼす TGF- $\beta$  アイソフォーム間の応答性の違いを調べることを目的とした。【材料および方法】マウスエナメル上皮細胞株 (mHAT9d) を TGF- $\beta$ 1,  $\beta$ 2, および  $\beta$ 3 で刺激し, EMT への形態変化, 次世代シーケンシング (NGS) による EMT 関連遺伝子の網羅的解析, TGF- $\beta$  経路の阻害実験, レポーター遺伝子を用いた TGF- $\beta$  アイソフォームの転写量の測定および TGF- $\beta$  補助受容体に対する TGF- $\beta$  アイソフォームの結合親和性について調べた。【結果】TGF- $\beta$ 1 または  $\beta$ 3 で刺激した mHAT9d 細胞では EMT が生じ, 上皮系および間葉系マーカー遺伝子発現にそれぞれ低下および上昇が認められたが, TGF- $\beta$ 2 で刺激した mHAT9d 細胞では EMT への反応性の低下が見られた。NGS 解析および阻害実験により, mHAT9d 細胞の TGF- $\beta$  刺激による EMT は Rho シグナル経路を主に介して生じることが判明した。PAI-1 遺伝子プロモーターを用いたルシフェラーゼアッセイにおいても mHAT9d 細胞に対して TGF- $\beta$  アイソフォーム間の反応性の相違が見られた。さらに mHAT9d 細胞に対する TGF- $\beta$  補助受容体の発現は, ベータグリカンは各 TGF- $\beta$  アイソフォーム刺激によって低下した。一方, エンドグリンは TGF- $\beta$ 1 または  $\beta$ 3 刺激によって上昇したが, TGF- $\beta$ 2 では変化がなかった。【結論】TGF- $\beta$  刺激によるエナメル上皮細胞の EMT は主に Rho シグナル経路を介して行われ, その際に生じる TGF- $\beta$  アイソフォーム間の応答の相違は, エンドグリンを介した TGF- $\beta$  受容体に対する結合親和性に起因する。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

#### Response of TGF-beta isoforms in enamel epithelial cell differentiation

○Miyakawa Y<sup>1,2</sup>, Karakida T<sup>2</sup>, Risako O<sup>2</sup>, Yamamoto R<sup>2</sup>, Kobayashi S<sup>1</sup>, Asada Y<sup>1</sup>,  
Yamakoshi Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup>Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med

Our **objective** was to investigate the differential response of three transforming growth factor-beta isoforms (TGF- $\beta$ 1,  $\beta$ 2, and  $\beta$ 3) to epithelial-mesenchymal transition (EMT) in enamel epithelial cells. **Methods:** A mouse enamel epithelial cell line (mHAT9d) in the presence of TGF- $\beta$ 1,  $\beta$ 2, and  $\beta$ 3 was cultured and explored the morphological changes in EMT, EMT-related genes by next-generation sequencing (NGS), TGF- $\beta$  pathway inhibition experiments, TGF- $\beta$  isoform transcription, and the expression of the TGF- $\beta$  receptor gene in response to the binding affinity of the TGF- $\beta$  isoform. **Results:** EMT was observed in mHAT9d cells cultured in the presence of TGF- $\beta$ 1 and  $\beta$ 3 but not TGF- $\beta$ 2. NGS analysis and inhibitory experiment suggested a Rho pathway as TGF- $\beta$  signaling pathways associated with EMT. Differences in PAI-1 promoter activity among TGF- $\beta$  isoforms were observed in luciferase reporter-gene assays. The expression of co-receptors for TGF- $\beta$  signaling in mHAT9d cells reduced following stimulation with each TGF- $\beta$  isoform. In contrast, endoglin levels increased following TGF- $\beta$ 1 or  $\beta$ 3 stimulation, but no change was noted in response to TGF- $\beta$ 2. **Conclusion:** In TGF- $\beta$ -stimulated enamel epithelial cells, EMT mainly occurred via the Rho signaling pathway, and the differences in response across TGF- $\beta$  isoforms were due to their endoglin-mediated binding affinity for the TGF- $\beta$  receptor.

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

---

### 3-PG84 小胞体ストレスを介した細胞死における細胞質 ATM の関与

---

○佛坂 由可<sup>1</sup>, 佛坂 齊祉<sup>2</sup>

<sup>1</sup>長大 院医歯薬 口腔腫瘍治療, <sup>2</sup>長大 院医歯薬 矯正

---

(目的) 我々はこれまで、ストレスによる細胞死機構として、小胞体 (ER) ストレスの関与とその経路を明らかにしてきた (Hotokezaka Y. Cell Death Differ. 2009, Cell Death Dis. 2015). 本研究では、これまで明らかにしてきた細胞死の経路に加えて、その上流に位置する細胞死経路を探求した。(結果) ヒト子宮頸部癌細胞 (Hela S3) を用いて、放射線、抗がん剤および低酸素環境ストレスを負荷し細胞死を誘発した。ストレスに共通して、細胞質に存在する毛細血管拡張性運動失調症遺伝子 (ataxia telangiectasia mutated: ATM) が細胞死誘発に不可欠な遺伝子であることを発見し、細胞質内 ATM はその遺伝子上で惹起される細胞死経路を進行させるプラットフォームとして機能していることを見出した。即ち、通常状態では、ATM 上に、リン酸化した AKT および glycogen synthase kinase-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ) が結合しているが、ストレスによる細胞死が惹起されると、この ATM 上にタンパク質脱リン酸化酵素である protein phosphatase 2A (PP2A) が結合し、PP2A が AKT を脱リン酸化し、脱リン酸化した AKT が GSK-3 $\beta$  を脱リン酸化、活性化させることを発見した。そして、ER ストレスを惹起し細胞死を引き起こす経路と直接的に繋がる事を明らかにした。これらの結果は、ER ストレス経路の上流に ATM/AKT が位置しており、さまざまな種類のストレスに共通して、ATM/AKT 依存性の細胞死経路が引き起こされることを示している。(結論) 本研究は、これまで明らかにしてきた細胞死の経路に加えて、その上流の経路を解明し、今まで不完全であった ER ストレスを介した新しい細胞死経路の全体像を具体的な形で提示できたと考えている。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

#### ATM-associated signaling triggers the endoplasmic reticulum stress and cell death in response to stress

---

○Hotokezaka Y<sup>1</sup>, Hotokezaka H<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Clinl Oral Oncol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, <sup>2</sup>Dept Orthod Dentofac Orthop, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

---

Endoplasmic reticulum (ER) stress can be caused by perturbations in ER function resulting from the accumulation of unfolded/misfolded proteins in the ER lumen. We have clarified ER stress response-induced cell death mechanisms and its pathway (Hotokezaka Y. Cell Death Differ. 2009, Cell Death Dis. 2015). However, the molecular mechanisms upstream of the ER stress are not fully understood. In this study, we explored the cell death pathways further upstream to the ER stress response. Here we show participation of cytoplasmic ataxia telangiectasia mutated (ATM) in stress-induced apoptosis. In this study, cytoplasmic ATM serves as a platform on which protein phosphatase 2A-dependent dephosphorylation of AKT activates glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , thereby triggering ER stress and leading to mitochondria-dependent apoptosis. These results suggest an ATM/AKT-dependent cell death pathway triggered by various forms of stress and is located upstream of ER stress pathways. We could show the new picture of cell death pathways mediated by ER stress all the way through upstream to downstream.

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

---

---

### 3-PG85 神経ペプチド受容体 VIPR2 は PI3K 経路を介してがん細胞遊走を制御する

---

○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)P<sub>2</sub> が代謝され、PI(3, 4, 5)P<sub>3</sub> が産生される必要がある。PI(3, 4, 5)P<sub>3</sub> は WASP family verprolin homologous protein 2 (WAVE2) の細胞膜への移行を促進させ、その結果、移動端で WAVE2/actin-related protein 2/3 (ARP2/3) を介したアクチン重合が引き起こされ、葉状仮足が伸長する。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 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 MDA-MB-231 における VIPR2 の発現抑制、あるいは選択的 VIPR2 アンタゴニスト KS-133 を処置すると、VIP 誘導性の細胞遊走が抑制された。一方、安定発現させた外来性の VIPR2 は葉状仮足に集積し、その発現は PI3K 活性を増加させ、細胞遊走をさらに促進させた。この時、選択的 PI3K $\gamma$  阻害剤を処置すると、細胞遊走は著しく阻害された。VIPR2 減少細胞では、細胞膜近傍の WAVE2 や PI(3, 4, 5)P<sub>3</sub> が減少し、WAVE2-ARP-actin 間の相互作用が低下し、仮足の形成や伸長が著しく抑制された。これらの結果は、VIP-VIPR2 シグナリングが PI(3, 4, 5)P<sub>3</sub> 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、癌細胞遊走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 receptor VIPR2 regulates tumor cell migration through PI3K pathway

---

○Asano S, Ago Y

Dept Cell Mol Pharmacol, Grad Sch Biomed Health Sci, Hiroshima Univ

---

Phosphoinositide (PI) metabolism is critically involved in lamellipodium formation and extension for cell migration. Lamellipodia are formed at the leading edge of cells, and lamellipodium extension is regulated via the metabolism of PI(4, 5)P<sub>2</sub> into PI(3, 4, 5)P<sub>3</sub> by PI3K. The synthesized PI(3, 4, 5)P<sub>3</sub> promotes the translocation of WASP family verprolin homologous protein-2 (WAVE2) to the plasma membrane and regulates WAVE2/(actin-related protein2/3) ARP2/3-mediated elongation of actin filament at the leading edge and consequent lamellipodium extension. Here, we investigated if VIPR2, a receptor for vasoactive intestinal peptide (VIP), has a potential role in regulating cell migration via this pathway. We found that VIPR2-silencing in MDA-MB-231 human breast cancer cells or treatment with a VIPR2-selective antagonist KS-133 or a PI3K $\gamma$ -inhibitor AS605240 suppressed VIP-induced cell migration. VIPR2 stably-expressing cells exhibited increased PI3K activity. Membrane localization of PI(3, 4, 5)P<sub>3</sub> was significantly attenuated by VIPR2-silencing. VIPR2-silencing in MDA-MB-231 cells suppressed lamellipodium extension; in VIPR2-overexpressing cells, VIPR2 accumulated in the cell membrane on lamellipodia and co-localized with WAVE2. Conversely, VIPR2-silencing reduced WAVE2 level on the cell membrane and inhibited the interaction between WAVE2, ARP3, and actin. These findings suggest that VIP-VIPR2 signaling controls cancer migration by regulating WAVE2-mediated actin nucleation and elongation for lamellipodium formation through the synthesis of PI(3, 4, 5)P<sub>3</sub>.

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

---



### 3-PG86 カプサイシンのマウス味覚神経応答に対する影響

○岩田 周介<sup>1,2</sup>, 吉田 竜介<sup>3</sup>, 高井 信吾<sup>1</sup>, 實松 敬介<sup>1,2,4</sup>, 重村 憲徳<sup>1,2</sup>, 二ノ宮裕三<sup>3,5</sup>

<sup>1</sup>九大 院歯 口腔機能解析, <sup>2</sup>九大 五感応用デバイス研究開発センシング, <sup>3</sup>岡大 院医歯薬 口腔生理, <sup>4</sup>九大 院歯 OBT 研究セ, <sup>5</sup>モネル化学感覚研

香辛料は食のおいしさを際立たせる独特のフレーバーを醸成し、食味の構築に重要な役割を果たす。しかし、その味覚効果の実体は未だ不明である。例えば、唐辛子の辛味成分であるカプサイシン (CAP) は三叉神経末端に存在する痛み受容陽イオン非選択的イオンチャネルの TRPV1 を刺激することは明らかになっているが、味覚への影響に関しては、ヒトで、全く影響はないとする報告から、苦味を感じる、甘味うま味を低下させるなど味覚修飾が生じたとするもの、げっ歯類の味細胞・味神経応答の解析においても、苦味甘味の低下、うま味の増強、塩味の増強や低下など、相反する結果も含め多種多様の報告がなされている。しかし、これらの報告の多くは、CAP 受容体候補 TRPV1 の感受性の低下 (脱感作) をもたらす 30  $\mu$ M 以上 (-500  $\mu$ M) の CAP を用いており、多様な結果の背景には、味覚測定の実験的再現性の問題も強く示唆される。そこで、本研究では、脱感作の生じる可能性の低い 0.1~10  $\mu$ M CAP の味覚への影響を、マウス鼓索神経応答を指標に検索した。その結果、この濃度範囲の CAP の舌刺激は、鼓索神経に有意な活動変化を起こさないことがわかった。次に、各種、甘・塩・酸・苦・うま味溶液と、それらの 3  $\mu$ M CAP 混合液に対する応答を解析した。その結果、0.5M 単糖類及び二糖類、0.1M NaCl の応答が有意に増強され、人工甘味料や他の味物質に対する応答には変化がなかった。仮に、CAP が TRPV1 を介して味覚に影響を生じると仮定すると、味細胞に TRPV1 が発現し、その活性化による直接的な効果、あるいは三叉神経末端の TRPV1 を介し軸索反射で分泌されたペプチドによる味細胞への間接的な影響などが予想される。鼓索神経応答解析の結果、この軸索反射により放出されるペプチドの 1 つであるアドレノメデュリンが、糖特異的な甘味応答の増強に関与し、さらに CAP による甘味応答の増強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。

### Capsaicin enhances responses of the gustatory nerve to sugars and salt in mice

○Iwata S<sup>1,2</sup>, Yoshida R<sup>3</sup>, Takai S<sup>1</sup>, Sanematsu K<sup>1,2,4</sup>, Shigemura N<sup>1,2</sup>, Ninomiya Y<sup>3,5</sup>

<sup>1</sup>Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>2</sup>Div Sens Physiol Med Appl Sensing, R&D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ, <sup>3</sup>Dept Oral Physiol, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ, <sup>4</sup>OBT Res Cent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>5</sup>Monell Chem Senses Cent, USA

Capsaicin (CAP) is a naturally occurring vanilloid that gives chili peppers their spicy taste via activation of TRPV1 channels. There are several reports investigating potential effects of CAP on taste responsiveness, but results have reported so far are controversial. For example, CAP had no effect on, modified, or elicited particular taste(s) in humans and rodents. Concentrations of Cap (30–500 microM) used in most of those studies, however, are known to cause desensitization (reduction of responsiveness to repeated stimulations), thereby potentially irreproducible results. In this study, to avoid the Cap desensitization, we used lower concentrations of Cap (0.1–10 microM) and examined potential effects of Cap on taste responses of the mouse chorda tympani nerve to various tastants. The results showed that Cap alone elicited no taste nerve responses. Intriguingly, addition of CAP enhanced responses to mono- and di-saccharide sugars and NaCl but not to artificial sweeteners and other bitter, sour, salty and umami compounds. Sweet receptor, T1R2/T1R3 is known to be broadly sensitive to both sugars and artificial sweeteners, suggesting our data may imply potential involvement of T1Rs-independent sweet taste pathways in the Cap enhancement of sugar responses.

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

---

### **3-PG87 3壁性歯周組織欠損部に歯髓細胞の培養上清液を投与した時の効果**

---

○Montenegro Raudales Jorge Luis, 本田 雅規

愛院大 歯 口腔解剖

---

#### **Effect of the administration of culture supernatant from dental pulp cells in 3-wall periodontal defects**

---

○Montenegro Raudales JL, Honda M

Div Oral Anat, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent

---

##### **Purpose**

Periodontitis is an inflammatory disease that leads to the destruction of the tissues that surround and support the teeth. The complex composition of hard and soft tissue of the periodontium and its limited regenerative ability poses a challenge for regenerative therapies. Therefore, studies have employed the use of dental pulp cells (DPCs) for periodontal tissue regeneration. DPCs secrete numerous growth factors that promote wound healing, angiogenesis and have been shown to enhance regeneration in rat periodontal defects. Since many beneficial growth factors are contained in the culture supernatant of DPCs, we hypothesize that the addition of culture supernatant would have similar regenerative effects to the application of DPCs. Therefore, the aim of this study is to assess if DPC culture supernatant can enhance regeneration in a rat three-wall periodontal bone defect.

##### **Materials & Methods**

Three-wall bone defects were created bilaterally on the mesial side of the maxillary first molars of 9-week-old male F344 rats. The defects were left untreated (no transplant group) or treated with a sponge scaffold (Spongel) alone (Spo), kids dental pulp cell supernatant (KDPS) (Cell Technologies) alone, or Spongel embedded with KDPS (Spo/KDPS). To assess alveolar bone regeneration, micro-computed tomography (micro-CT) was performed after 1, 2, 3 and 4 weeks of surgery. At each timepoint the distance from the cement-enamel junction (CEJ) to the alveolar bone crest (ABC) was measured and compared among each group. Statistical comparisons between groups were performed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey-Kramer post hoc test.

##### **Results**

Micro-ct analysis showed that in all groups there was a gradual decrease in the distance from the CEJ to the ABC during the 4-week period. After 1 week and 2 weeks of surgery, the distance from CEJ to the ABC was significantly shorter in the Spo/KDPS compared to the Spo and no transplant groups.

##### **Conclusion**

These results indicate that KDPS together with a scaffold promotes bone regeneration in three-wall periodontal defect similar to cell therapies such as DPCs. Further histological analyses are required to evaluate the full extent of tissue regeneration at the defect site.

**Collaborators:** Shuhei Tsuchiya, Yoshinobu Uemura and Namiko Shinohara

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

---

---

## 1-PMS1 イベリンがヒト口腔上皮細胞の炎症性メディエーター産生に及ぼす影響の解析

---

○藤井亜祐美, 嘉手納公威, 佐藤 朱里, 下山 真弘, 細川 育子, 細川 義隆  
徳大 院医歯薬 再生歯科

---

【目的】 歯周炎は歯周病原性細菌により惹起される炎症性疾患であり, 細菌に対する免疫応答が歯周組織破壊の要因となっており, 抗炎症作用を持つ生理活性物質の歯周炎治療へのさらなる応用が期待されている. イベリンは緑黄色野菜に含まれている生理活性物質でありイソチオシアネートの一種であるが抗炎症作用に関しては報告が少なくヒト歯周組織構成細胞に与える影響についての報告は皆無である. 本研究ではヒト口腔上皮細胞の炎症性メディエーター産生にイベリンが及ぼす影響を明らかとするために検討を行った. 【方法】 ヒト口腔上皮細胞は TR146 (Mark Herzberg 博士・ミネソタ大学より供与) を用いた. TR146 を 10% FBS を含む HamF12 培地で培養し, TR146 をイベリン存在下あるいは非存在下で TNF- $\alpha$  (100 ng/ml) で刺激した後に培養上清中の IL-6 および CXCL10 産生を ELISA 法にて細胞内の VCAM-1, iNOS および COX2 発現を western blot 法にて確認した. また, TNF- $\alpha$  刺激が活性化するシグナル伝達経路 (NF- $\kappa$ B, STAT3, p70S6K-S6) へのイベリンの影響を見るために western blot 法にて解析を行った. 【結果・考察】 TNF- $\alpha$  刺激で誘導された IL-6 および CXCL10 の培養上清中への産生はイベリンの存在により有意に減少した. また, TNF- $\alpha$  刺激で誘導された VCAM-1, iNOS および COX2 の発現はイベリン存在下で減少した. さらに TNF- $\alpha$  で刺激した TR146 細胞内の NF- $\kappa$ B, STAT3 および p70S6K-S6 それぞれのシグナル伝達経路の活性化はイベリン処理により抑制された. 今回の結果から, イベリンはヒト口腔上皮細胞に対して抗炎症効果を示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.

---

### The effect of iberin on the production of inflammatory mediators in human oral epithelial cells

---

○Fujii A, Kadana K, Sato J, Shimoyama M, Hosokawa I, Hosokawa Y  
Dept Regen Dent Med, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

---

[Introduction] Periodontitis is an inflammatory disease caused by periodontopathic bacteria, and the immune response to the bacteria is involved in the destruction of periodontal tissue. Iberin is an isothiocyanate contained in green and yellow vegetables. In this study, we investigated the effect of Iberin on the production of inflammatory mediators in human oral epithelial cells. [Method] We used TR146 cells as human oral epithelial cells in this study. TR146 cells were stimulated with TNF- $\alpha$  (100 ng/ml) in the presence or absence of iberin, and ELISA was used to detect IL-6 and CXCL10 production in the supernatants. VCAM-1, iNOS, and COX2 expression, and the activation of signal transduction pathways (NF- $\kappa$ B, STAT3, p70S6K-S6) in TR146 cells were detected by western blot analysis. [Result/Discussion] The expressions of IL-6, CXCL10, VCAM-1, iNOS, and COX2 induced in TNF- $\alpha$ -stimulated TR146 cells were significantly reduced by the presence of iberin. The activation of the signal transduction pathways of NF- $\kappa$ B, STAT3, and p70S6K-S6 in TNF- $\alpha$ -stimulated TR146 cells was suppressed by iberin treatment. From these results, it was clarified that Iberin has an anti-inflammatory effect on human oral epithelial cells.

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

---

## 1-PMS2 *Porphyromonas gingivalis* 線毛は LPS によるヒト単球のインターロイキン-6 産生を相乗的に誘導する

○遠山 学<sup>1,2</sup>, 多田 浩之<sup>2</sup>, 沼崎 研人<sup>2</sup>, 松下 健二<sup>3</sup>, 菅原 俊二<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東北大 歯 6年, <sup>2</sup>東北大 院歯 口腔分子制御, <sup>3</sup>長寿セ 口腔疾患

**【緒言】** 歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* は、線毛、リポ多糖(LPS)、外膜小胞(OMV)やジンジパインなど多様な病原因子を保持する。歯周病罹患患者では全身の臓器で本菌が検出され、感染性心内膜炎や敗血症の病態への関与が示唆されており、インターロイキン-6 (IL-6)は病態に重要な役割を担う。本研究は *P. gingivalis* の病原因子に感作されたヒト単球が LPS による IL-6 産生誘導に及ぼす影響について検討した。**【材料と方法】** ヒト急性単球性細胞株 THP-1 を活性型ビタミン D<sub>3</sub>誘導体で単球様細胞に分化誘導した。同細胞に *P. gingivalis* 線毛をプライミング後 LPS で刺激し、上清の IL-6 レベルを ELISA で測定した。**【結果】** *P. gingivalis* 全菌体、線毛ならびに OMV でプライミングした THP-1 細胞は、LPS による IL-6 産生が相乗的に亢進した。*P. gingivalis* 線毛のプライミングにより、大腸菌のほか *Salmonella enterica*, *Fusobacterium nucleatum* や *P. gingivalis* 由来 LPS の刺激でも相乗的に IL-6 が産生された。*P. gingivalis* 線毛のプライミングにより LPS 刺激で誘導されるサイトカインをアレイ法で解析した結果、IL-6 のみが相乗的に誘導されることが明らかとなった。*P. gingivalis* 線毛のプライミング、LPS 刺激による相乗的 IL-6 誘導は、NF- $\kappa$ B および MAP kinase ERK 阻害剤で抑制された。**【考察】** *P. gingivalis* 線毛に感作されたヒト単球は、LPS 刺激により IL-6 を相乗的に産生することが示された。線毛による相乗的な IL-6 誘導は菌体成分のみで惹起されることから、歯周組織のみならず全身の臓器における炎症を増幅させる可能性が示唆される。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

## Synergistic effect of *Porphyromonas gingivalis* fimbriae on the lipopolysaccharide-induced production of interleukin-6 in human monocytic cells

○Toyama M<sup>1,2</sup>, Tada H<sup>2</sup>, Numazaki K<sup>2</sup>, Matsushita K<sup>3</sup>, Sugawara S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>6th grade, Dent Sch, Tohoku Univ, <sup>2</sup>Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Oral Dis Res, NCGG

**Purpose** *Porphyromonas gingivalis* possesses virulence factors including fimbriae, lipopolysaccharide (LPS), outer membrane vesicles (OMV) and gingipain. *P. gingivalis* has been detected in systemic organs of patients with periodontal disease, suggesting its involvement in the pathogenesis of infective endocarditis and sepsis, and interleukin-6 (IL-6) plays an important role in the pathogenesis. This study examined the effect of human monocytes sensitized to *P. gingivalis* virulence factors on the induction of IL-6 production by LPS. **Materials and Methods** The human monocytic cell line THP-1 was induced to differentiate into monocyte-like cells with an active vitamin D<sub>3</sub> analog. The cells were stimulated with LPS after priming with *P. gingivalis* fimbriae, and IL-6 levels in the supernatant were measured by ELISA. **Results** LPS-induced IL-6 production was synergistically enhanced in THP-1 cells primed with *P. gingivalis* whole cells, fimbriae and OMV. Array analysis revealed that only IL-6 was synergistically induced by priming of *P. gingivalis* fimbriae and LPS stimulation. The synergistic induction of IL-6 by *P. gingivalis* fimbriae was inhibited by NF- $\kappa$ B and ERK inhibitors. **Conclusion** Synergistic IL-6 induction is induced only by bacterial components such as fimbriae, suggesting that IL-6 induction may amplify inflammation not only in periodontal tissues but also in systemic organs.

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



---

## 1-PMS3 歯周病の病態における酪酸菌の持つ効果の解析

---

○中村 麻衣<sup>1</sup>, 岸川 咲吏<sup>2</sup>, 永尾 潤一<sup>2,3</sup>, 田中 芳彦<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>福歯大 リサーチスチューデント, <sup>2</sup>福歯大 機能生物 感染生物, <sup>3</sup>福歯大 口腔医学セ

歯周病は歯周組織の炎症と骨吸収を特徴とする内因感染症である。口腔内に常在する歯周病原細菌の中でも、特に Red complex に属する *Porphyromonas gingivalis* は歯周病発症への関連が特に高いことが知られている。歯周病の病態形成には、歯周病原細菌に対する宿主の免疫応答、その中でもサイトカイン IL-17A を産生する Th17 細胞が重要な役割を果たし、歯周組織に Th17 細胞が集積することで歯周病の病態を増悪させることが報告されている。しかしながら、歯周病の病態形成において、Th17 細胞の免疫制御のメカニズムはよく分かっていない。近年、腸内細菌を含む腸内環境の変化が、関節リウマチなどの様々な疾患の発症に関与することが報告されており、腸管による全身の免疫制御機構が明らかになっている。さらに腸乳酸菌や酪酸菌などの腸内環境を改善する微生物を付与するプロバイオティクスが新しい治療法として着目されており、宿主の免疫を活性化することで種々の疾患の発症抑制に関与することが報告されている。本研究では、歯周病原細菌感染モデルマウスを用いて、プロバイオティクスである酪酸菌を腸内に定着させることで、*P. gingivalis* による歯周病の病態形成に影響を及ぼすという仮説に基づき実験を行った。一定期間抗生物質を投与したマウスに酪酸菌を投与し、その後 *P. gingivalis* を感染させた。マウスの糞便を採取して酪酸菌の定着と歯周組織の免疫細胞の変化を調べた。その結果、酪酸菌の投与によりマウスの歯周組織の Th17 細胞を減少させることがわかった。今後はプロバイオティクスの投与により、マウスの歯槽骨吸収抑制効果を調べる実験を行いたいと考えている。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Effect of probiotic butyric acid bacteria in periodontal disease in mice

---

○Nakamura M<sup>1</sup>, Kishikawa S<sup>2</sup>, Nagao J<sup>2,3</sup>, Tanaka Y<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Undergraduate research student program, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, <sup>3</sup>Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll

Periodontitis is an endogenous infection characterized by periodontal tissue inflammation and alveolar bone loss. Among indigenous periodontal bacteria in the mouth, *Porphyromonas gingivalis*, one of Red complex bacteria, is especially known to be highly correlated to periodontitis. IL-17A producing Th17 cells have been reported to exacerbate periodontitis. However, immune regulation of Th17 cells in periodontitis remains elusive. Recently, changes of gut homeostasis, including microflora, have been showed to cause diseases such as rheumatoid arthritis and regulate systemic immune response. Furthermore, changes of gut homeostasis by taking probiotic bacteria such as *Lactobacillus* and Butyrate-producing bacteria, is expected to improve some diseases by activating host's immune system. In this study, we hypothesized that presence of butyrate-producing bacteria in the gut would contribute to inhibition of periodontitis. We administered butyric acid bacteria to mice after antibiotics treatment, and then infected mice with *P. gingivalis*. We took up fecal from each group to investigate house of butyric acid bacteria in the gut and changes of immune cells in the periodontal tissue. As a result, administration of butyrate-producing bacteria shows to decrease Th17 cells in the gingiva. In the future, we will study how effective administration of probiotics suppress bone loss caused by periodontitis.

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

---

---

## 1-PMS4 シェーグレン症候群モデルマウスにおける鼻腔組織の病態解析

---

○田村 海, 川人 祐樹, 佐藤 真美, 大塚 邦紘, 常松 貴明, 石丸 直澄  
徳大 院医歯薬 口腔分子病態

---

シェーグレン症候群(SS)は涙腺や唾液腺を標的臓器とする自己免疫疾患であり, 外分泌腺機能低下によるドライマウス・ドライアイを主症状とする。さらに, ドライノーズも SS の症状の一つであるが, 鼻組織の詳細な病態解析は, 唾液腺や涙腺と比較して進んでいない。そこで SS モデルマウスの鼻粘膜における炎症病変の免疫病理学的解析を実施し, SS におけるドライノーズの発症・進展の機序解明を目的とした。

SS モデルマウスとして知られている雌性 MRL/*lpr* マウスおよび新生仔期に胸腺摘出を施した NFS/*sld* マウスの病態に応じた週齢毎の鼻腔組織 HE 染色標本を作成し, 炎症状態に注目して病態を解析した。また, CD45.2, CD19, CD4, F4/80, CD11c 等の免疫担当細胞マーカーによる免疫組織染色により, 炎症部位の各免疫細胞の分布を確認した。さらに定量 RT-PCR により鼻粘膜, 顎下腺, 脾臓における IL-33, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ , IL-10, IL-4 の発現量を解析した。

SS モデルマウスにおいて鼻粘膜のびらんと鼻腺周囲への炎症性細胞浸潤が観察され, 鼻粘膜において CD4 陽性 T 細胞, CD19 陽性 B 細胞, マクロファージの浸潤が加齢により有意に増加していた。また鼻組織への炎症性細胞の浸潤と SS 病態の進展および顎下腺の病態増悪とは正の相関を示した。さらに, 鼻粘膜において IFN- $\gamma$ , 顎下腺において IL-33 が週齢を経ると有意に減少することが分かった。今後, 鼻粘膜組織に発現するサイトカインやケモカインについても解析し, ドライノーズ発症メカニズム解明を目指していきたい。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Pathological analysis of nasal tissue in a murine model of Sjogren's syndrome

---

○Tamura K, Kawahito Y, Sato M, Otsuka K, Tsunematsu T, Ishimaru N

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

---

The main clinical symptoms of Sjogren's syndrome (SS) are dry mouth and dry eyes. In addition, dry nose is also one of the symptoms, but detailed pathological analysis of the nasal tissue has less progressed in comparison to that of salivary and lacrimal glands. Therefore, we performed immunopathological analysis of inflammatory lesions in the nasal mucosa of SS model mice to elucidate the mechanism of onset and development of dry nose in SS.

HE-stained specimens of nasal cavity tissues were prepared at each week-age of female MRL/*lpr* mice and NFS/*sld* mice with neonatal thymectomy. The distribution of each immune cell was confirmed by immunohistochemistry. The expression of each immune cell was analyzed by quantitative RT-PCR. mRNA expression levels of cytokines in the nasal mucosa, submandibular gland, and spleen were analyzed by quantitative RT-PCR.

Erosion of the nasal mucosa and inflammatory cell infiltration around the nasal glands were observed, and increased infiltration of inflammatory cells in the nasal mucosa was observed with aging. The cell number of inflammatory cell infiltration into the nasal tissue was positively correlated with the pathology in salivary glands. Decrease of IFN- $\gamma$  in the nasal mucosa and IL-33 in the submandibular gland was found with aging.

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

---

---

## 1-PMS5 シェーグレン症候群モデルマウスである NFS/*sld* マウスの変異遺伝子 *Mucin19* の発現解析と病態との関連性

---

○川人 祐樹, 田村 海, 常松 貴明, 佐藤 真美, 大塚 邦紘, 石丸 直澄

徳大 院医歯薬 口腔分子病態

---

新生仔胸腺摘出 NFS/*sld* マウスはシェーグレン症候群 (SS) のモデルマウスとして知られている。*sld* 変異の原因遺伝子は *Mucin19* (*Muc19*) である。*sld* 変異はマウスの舌下腺の分化異常を引き起こし、*Muc19* の発現に影響を与えている。しかし、どのような機構により *sld* 変異が SS を発症させるのかは不明な点が多い。本研究は、*Muc19* の発現と SS の病態との関係性を明らかにすることを目的とした。

まず、NFS/*sld* マウスと健常マウスである C57B6/6J (B6) マウスの舌下腺における *Muc19* の発現を Western Blot 法により解析した。また、*Muc19* 及びアミラーゼ等の唾液腺機能分子の発現を定量 RT-PCR で解析した。さらに、NFS/*sld* マウスと B6 マウスから唾液を採取し、糖タンパク質の量を解析した。

舌下腺において NFS/*sld* マウスでは、*Muc19* の発現が B6 マウスと比較して有意に減少していた。一方、NFS/*sld* マウスは *Muc19* 発現が低いにもかかわらず、定量 RT-PCR の結果、*Muc19* 及び唾液腺機能分子の発現においては B6 マウスとの間に差異は認められなかった。唾液の解析の結果、NFS/*sld* マウスでは B6 マウスに比べ唾液中の糖鎖の濃度が減少していた。

以上の結果、NFS/*sld* マウスと健常マウスの間では *Muc19* と糖鎖の量のみの違いがみられた。つまり、*Muc19* と糖鎖の減少が SS の発症に関連することが示唆された。

なお、現在放射線照射マウスを用いた GvHD モデルマウスを作成し、唾液や糖タンパク質の減少とリンパ球浸潤の関係性を検討している。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Role of Mucin 19 in Pathogenesis of Sjogren's Syndrome using a mouse model of NFS/*sld* mice

---

○Kawahito Y, Tamura K, Tsunematsu T, Sato M, Otsuka K, Ishimaru N

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

---

NFS/*sld* mice with neonatal thymectomy are known as one of model mice of Sjogren's Syndrome (SS). The responsible gene of the *sld* mutation is *Mucin19* (*Muc19*). The purpose of this study is to elucidate the relation between the expression of *Muc19* and the pathophysiology of SS.

The expression of *Muc19* in sublingual glands of NFS/*sld* and C57B6/6J (B6) mice was analyzed by Western blotting. The expression of *Muc19* and functional molecules of salivary glands was analyzed by quantitative RT-PCR. In addition, glycoproteins of saliva collected from NFS/*sld* and B6 mice were measured.

The result of Western blotting showed that there was much less amount of *Muc19* in sublingual glands in NFS/*sld* mice than that in B6 mice. However, there is no difference in the expression of *Muc19* between them. The analysis of saliva showed that the concentration level of sugar chain in saliva of NFS/*sld* mice was lower than that of B6 mice.

Thus, this study showed that the decrease of *Muc19* and sugar chain may be related to the onset of SS. Now we try to set up the GvHD model mice and examine the relation of the decrease of saliva and glycoproteins to lymphocytic infiltration.

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

---

---

## 1-PMS6 メダカ咽頭歯の形成過程における SOX 遺伝子の関与

---

○佐藤 幹也<sup>1</sup>, 湯本 華帆<sup>1</sup>, 守田 剛<sup>2</sup>, 角田 佳折<sup>2</sup>, 馬場 麻人<sup>2</sup>

<sup>1</sup>徳大 歯 歯, <sup>2</sup>徳大 院医歯薬 顎顔面形態

---

**【目的】** 雄性を決定する SRY (Sex-determining region Y) は, HMG ボックスと呼ばれる DNA 結合領域を持ち, この HMG ボックス構造を含み SRY と 60%以上の相同性を持つ遺伝子群を SOX (SRY-related HMG box) 遺伝子ファミリーと呼ぶ. SOX 遺伝子は他の遺伝子の発現制御部位の DNA 配列に結合する転写因子であり, 器官の発生や細胞分化の制御などを担っている. メダカの SOX 遺伝子は哺乳類との相同性が確認されているが, メダカ咽頭歯における SOX 遺伝子の発現について詳細な報告はない. そこで, メダカ咽頭歯の形成過程における SOX 遺伝子の発現パターンを検討し, メダカ咽頭歯形成における SOX 遺伝子の関与について明らかにすることを目的とした. **【方法】** 実験には, 体長約 30 mm の成熟ヒメダカを用いた. メダカの咽頭組織, 尾鰭, 肝臓, 脳から Total RNA を回収した後, 各組織の cDNA を作製し, Real-time PCR 法を用いて, SOX の発現量を相対的に比較した. 次に, メダカの頭部を 4%パラホルムアルデヒド溶液にて, 一晩 4°C で浸漬固定し, その後 8% EDTA (pH7.4) を用いて, 4°C で 3 日間脱灰した. 通法に従い, パラフィン切片を作成し, HE 染色および in situ hybridization 法により組織学的に検討した. **【結果および結論】** Real-time PCR の結果, SOX 遺伝子群は咽頭組織で検出され, 骨および肝臓と比較して有意に高い発現量だった. In situ Hybridization の結果, 歯胚期における SOX 遺伝子群は, エナメロイドに隣接する上皮細胞に強く発現していたが, 象牙芽細胞では検出できなかった. 機能歯における SOX 遺伝子群は歯胚期と同様に象牙芽細胞では検出できなかったが, 歯足骨内および歯足骨の吻側に隣接する細胞に認められた. 以上の結果より, メダカの SOX 遺伝子群のエナメロイドおよび歯足骨形成へ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.

---

## Involvement of sox genes during the formation of medaka pharyngeal tooth and pedicle

---

○Sato M<sup>1</sup>, Yumoto K<sup>1</sup>, Morita T<sup>2</sup>, Sumida K<sup>2</sup>, Baba O<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tokushima Univ Fac of Dent, <sup>2</sup>Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci Dept Maxillofac Anat

---

**Purpose:** The sox genes play critical roles in organogenesis and cell differentiation. In this study, we investigated the expression pattern of the sox genes in the pharyngeal tissue to clarify the involvement of those genes during pharyngeal tooth and its pedicle in medaka. **Materials & Methods:** Total RNAs were collected from the brain, liver, fin ray bone, and pharyngeal tissue. The cDNA of targeted transcripts was generated, and then real-time PCR (qPCR) was performed to examine the expression levels for sox genes in pharyngeal teeth compared to other tissues. In situ hybridization (ISH) was performed using paraffin sections. **Results and Conclusion:** The qPCR results showed that the transcripts of sox genes were detected at significantly higher levels in the pharyngeal tissues rather than those in bone and liver. The ISH showed that sox genes were detected in epithelial cells adjacent to enameloid, while were not detected in odontoblasts at the tooth germ stage. Moreover, sox genes were detected in the cells of the pedicles beneath the functional teeth. These results suggested the involvement of sox genes during the enameloid and pedicle formation in medaka.

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

---



---

## 1-PMS7 *Porphyromonas gingivalis* における *mfa1* 部位特異的変異導入による線毛形成に及ぼす影響の検討

---

○大石 明広, 内記 良一, 岩瀬 智彦, 榮 宏太郎, 長谷川義明

愛院大 歯 微生物

【目的】 歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* は V 型線毛に分類される FimA および Mfa1 線毛をもつ。V 型線毛の形態形成においてはフィンブリリンの N 末端領域がプロテアーゼによって切断され、その切断により生じた溝にもう一方のフィンブリリンの C 末端  $\beta$  ストランドが結合し重合する機構であるが、*P. gingivalis* の Mfa1 線毛においては完全には解明されていない。そこで本研究では、主要成分 Mfa1 の N 末端あるいは C 末端の部位特異的変異株を作製し、菌体表面での線毛の発現および線毛形態形成に及ぼす影響を検討した。【方法】 *P. gingivalis* ATCC 33277 由来の *fimA* 欠失株を親株として、ジンジパイン（プロテアーゼ）により切断される 49 番目のアルギニンをアラニンに置換した + *mfa1R49A* 株、34 番目のリシンおよび 49 番目のアルギニンの両方をアラニンに置換した + *mfa1K34R49A* 株、C 末端の 6 アミノ酸残基を削除した + *mfa1 $\Delta$ C* 株を作製した。菌体表面での Mfa1 線毛の発現量を ELISA により解析した。重合型 Mfa1 をウェスタンブロット法にて解析した。+ *mfa1R49A* 株から線毛を精製し透過型電子顕微鏡により観察した。【結果】 + *mfa1R49A* 株、+ *mfa1K34R49A* 株および + *mfa1 $\Delta$ C* 株の菌体表面での線毛発現量は、親株と比較し有意に減少した。親株においてラダー状に検出される重合型 Mfa1 バンドが + *mfa1R49A* 株および + *mfa1K34R49A* 株では減少し、+ *mfa1 $\Delta$ C* 株では全く検出されなかった。+ *mfa1R49A* 株の線毛では線維状構造が観察されたものの球状の構造物も多く観察された。【考察】 Mfa1 線毛の菌体表面での発現及び形態形成には、Mfa1 の N 末端のジンジパインによる切断および C 末端  $\beta$  ストランドの両方が重要な役割を担っていることが考えられた。

【利益相反】 利益相反状態にはありません。

---

## Effects of *Mfa1* site-directed mutagenesis on fimbriation of *Porphyromonas gingivalis*

---

○Oishi A, Naiki Y, Iwase T, Sakae T, Hasegawa Y

Div Microbiol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent

Purpose: In the biogenesis of type V fimbriae, the N-terminal region of fimbrilin is cleaved by a protease, and the C-terminal  $\beta$ -strand of another fimbrilin binds to and polymerizes in the groove created by the cleavage. However, the mechanism for Mfa1 fimbriation, belonging to the type V fimbriae, in the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* is not fully understood. In this study, we constructed mutant strains using site-directed mutagenesis of the N- or C-terminus of *mfa1* and examined their effects on fimbriation. Method: The N-terminal mutants of + *mfa1R49A* and + *mfa1K34R49A* and C-terminal mutant of + *mfa1 $\Delta$ C* with deletion of six amino acid residues were constructed. Fimbriae expression was analyzed using Enzyme-linked immuno-sorbent assay. Polymerization of Mfa1 was assessed using western blotting. The purified fimbriae were observed via transmission electron microscopy. Result: The expression of Mfa1 fimbriae of + *mfa1K34R49A* and + *mfa1 $\Delta$ C* was significantly lower than that in the parent strain. The polymer Mfa1 bands were reduced in the + *mfa1R49A*, + *mfa1K34R49A*, and + *mfa1 $\Delta$ C* mutants. Although fibers of + *mfa1R49A* were observed, many round structures were also detected. Conclusion: Both N-terminal gingipain-mediated cleavage of Mfa1 and the C-terminal  $\beta$ -strand were considered to play important roles in Mfa1 fimbriation.

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

---

---

## 1-PMS8 歯周病原細菌の増殖を阻害するヒト口腔常在細菌の探索と解析

---

○生田宗一郎<sup>1</sup>, 永尾 潤一<sup>2,3</sup>, 田中 芳彦<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>福歯大 リサーチチューデント, <sup>2</sup>福歯大 機能生物化学 感染生物, <sup>3</sup>福歯大 口腔医学セ

---

近年、歯周病をはじめとする口腔疾患が糖尿病や誤嚥性肺炎などの全身疾患に影響することが注目されている。口腔内のデンタルプラークには700種以上の微生物が存在しており、口腔微生物叢が形成されている。口腔微生物叢では様々な細菌が共生および拮抗状態を作り出していると考えられているが、口腔衛生状態の不良などにより細菌間の共生および拮抗状態が崩れることで、病原微生物が増殖し歯周病などの口腔疾患が生じると考えられている。我々は口腔微生物叢における細菌間の拮抗状態に着目し、ある種の細菌が抗菌因子などを産生することで、他の細菌の増殖を抑え、自己増殖のために優位な環境を作り出しているのではないかと仮説を立てた。本研究では、口腔微生物叢において、歯周病原細菌の増殖を抑制する細菌を同定し、さらにその抑制メカニズムを解明することを目的とする。健康人のプラークから採取した細菌の中から、red complex に分類される歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* の増殖を抑制する細菌をスクリーニングし、数種類の細菌を見出した。その中で、歯垢から単離したデンタルプラークの早期定着菌である細菌が *P. gingivalis* の増殖を抑制することを明らかにした。現在、単離した細菌のグラム染色性や16S rRNA解析などの特性、およびこの細菌が増殖を抑制する抗菌因子などの特定を試みている。また、*P. gingivalis* 以外の細菌に対する増殖阻害活性についても解析している。**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## Screening and analysis of human oral bacteria that inhibit the growth of periodontal pathogen

---

○Ikuta S<sup>1</sup>, Nagao J<sup>2,3</sup>, Tanaka Y<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Undergraduate research student program, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, <sup>3</sup>Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll

---

The human oral cavity consists of several bacterial species and it has well-balanced microbiota. However, dysbiosis of the oral microbiota triggers the inflammatory disease periodontitis at the gingiva. In fact, a periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* is frequently isolated from the active site of periodontal patients. Oral microbiota make various symbiotic relationships with microorganisms. We hypothesize that oral microbiota of healthy human contains specific bacteria that exhibit competition against periodontal pathogen *P. gingivalis*. The aim of this study is to screen and identify the candidate bacteria derived from dental plaque of healthy human to inhibit the growth of *P. gingivalis*. We have successfully found some bacteria that inhibit the growth of *P. gingivalis*. We further characterized the isolated bacteria and also the produced antimicrobial substances.

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

---

---

## 1-PMS9 歯髄幹細胞培養上清の抗酸化効果による放射線性口腔乾燥症の治療メカニズム

---

○沖 若奈, 加納 史也, 西原 嵩晃, 橋本 登, 山本 朗仁  
徳大 院医歯薬 組織再生制御

---

【緒言】頭頸部の悪性腫瘍に対して外科手術以外に放射線治療が選択される。しかし照射範囲に唾液腺を含む場合、放射線性口腔乾燥症 (Radiation-induced xerostomia: RIX) が発現する。現在 RIX の有効な治療法はない。過去の研究で幹細胞の培養上清 (CM) が RIX モデルを改善させることが示されているが、メカニズムは不明である。本研究では歯髄幹細胞の CM (SHED-CM) を用いて RIX マウスモデルへの治療効果を検討した。【材料・方法】マウス頸部に X 線 5Gy 局所照射、および SHED-CM あるいは線維芽細胞培養上清 (Fibro-CM) の尾静脈投与を 7 日間継続した。マウス顎下腺を摘出し、唾液腺重量、組織学的評価、遺伝子学的評価、活性酸素 (ROS) の発現を評価した。不死化ヒト唾液腺腺房細胞 (AC) に X 線 5Gy 照射し、SHED-CM あるいは Fibro-CM で培養後、細胞増殖活性、遺伝子学的評価、ROS の発現を評価した。また各 CM の LC-MS/MS 解析によりプロテインプロファイルを明らかにした。【結果】X 線の連日照射後に顎下腺腺房は萎縮し細胞間隙が形成されたが、SHED-CM 投与群では間隙の形成の抑制、線維化の抑制を認め、唾液腺の機能を維持した。SHED-CM は放射線性由来の ROS を抑制し、複数の抗酸化遺伝子の発現を亢進させた。AC に放射線を照射し SHED-CM で培養すると ROS の発現が抑制された。LC-MS/MS 解析では、内因性抗酸化系を活性化する 8 つのタンパク質が特定され、SHED-CM で有意に多く発現していた。また SHED-CM 内の抗酸化酵素は Fibro-CM と同程度か有意に低かった。【結論】SHED-CM は腺房細胞の抗酸化活性を亢進し、放射線性由来の ROS の発現を抑制した。SHED-CM は RIX の新たな治療法となる可能性が示唆された。

【利益相反】利益相反状態にはありません。

---

## Therapeutic benefits of factors derived from stem cells from human exfoliated deciduous teeth for radiation-induced mouse xerostomia

---

○Oki Y, Kano F, Nishihara T, Hashimoto N, Yamamoto A  
Dept Anat Histol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

---

Radiation therapy for head and neck cancers is frequently associated with adverse effects on the surrounding normal tissue. Irreversible damage to radiation-sensitive acinar cells in the salivary gland (SG) causes severe radiation-induced xerostomia (RIX). Currently, there are no effective drugs for the treatment of RIX. In this study, we investigated the efficacy of conditioned medium derived from stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED-CM) for treatment of consecutive local irradiation of the SGs in a mouse RIX model. Intravenous administration of SHED-CM, but not fibroblast-CM (Fibro-CM), after each irradiation prevented radiation-induced cutaneous ulcer formation and maintained function of SGs. Notably, SHED-CM treatment strongly suppressed radiation-induced oxidative stress and enhanced the expression of multiple antioxidant genes in mouse RIX and human acinar cell. The therapeutic effects of SHED-CM were abolished by the superoxide dismutase inhibitor, sodium diethyldithiocarbamate trihydrate, suggesting that SHED-CM prevented RIX primarily through the activation of multiple antioxidant enzyme genes in the target tissue. Importantly, quantitative LC-MS/MS shotgun proteomics of SHED-CM and Fibro-CM identified eight proteins that activate the endogenous antioxidant system, which were significantly more abundant in SHED-CM. Taken together, our study suggest that the strong antioxidant activity of SHED-CM may provide substantial therapeutic benefits for RIX.

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

---

---

## 1-PMS10 *Candida albicans* 再感染における宿主応答の解析

---

○水上 昂<sup>1</sup>, 豊永 憲司<sup>2</sup>, 田中 芳彦<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>福歯大 リサーチスチューデント, <sup>2</sup>福歯大 機能生物 感染生物, <sup>3</sup>福歯大 口腔医学セ

口腔カンジダ症は、高齢者などの易感染宿主においてよく見られる疾患の一つである。主要原因菌として知られる病原性真菌 *Candida albicans* (*C. albicans*)は、ヒトにおいては常在菌でもあることから、抗真菌薬による治療後でも再発しうることが知られている。そのため、抗真菌薬に加えて、新たな治療薬・治療法の開発が望まれている。その効果評価の動物モデルとして、いくつかの口腔カンジダ症モデルマウスが樹立・報告されているものの、その多くは、マウスに前もってプレドニゾロンなどのいわゆる免疫抑制剤を投与することによって易感染状態を誘導しておき、感染後の口腔内 *C. albicans* の増殖を促すモデルである。一方で、易感染状態にない宿主免疫を介した感染防御機構に関してはあまり目が向けられておらず、マウスモデルにおいて再感染時の応答に焦点を当てた解析は少ない。口腔カンジダ症の新規治療薬や治療法開発の観点からも、再感染を含む、*C. albicans* 口腔感染に対する宿主防御メカニズムを明らかにすることは重要と考えられる。そこで我々は、前もって野生型マウスに *C. albicans* SC5314 株を感染させておき、一定期間飼育した後に免疫抑制剤を利用しないマウス口腔カンジダ症モデルを構築することで、事前感染の有無によって、誘導される宿主防御応答に違いが生ずるかどうかを比較・解析した。本演題では、事前感染が再感染時の菌排除や宿主防御応答に及ぼす影響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 host responses against secondary infection of *Candida albicans*

---

○Mizukami K<sup>1</sup>, Toyonaga K<sup>2</sup>, Tanaka Y<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Research Student, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, <sup>3</sup>Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll

Oral candidiasis is often observed in immunocompromised hosts. *Candida albicans* (*C. albicans*) is one of the most common pathogenic fungi of oral candidiasis in human. In addition to possessing high pathogenicity, the fungus shows high tolerance for existing antifungal drugs. Despite the establishment of several oral candidiasis model mice, the detailed host response against secondary *C. albicans* infection remains unclear. In this study, we analyzed and compared the difference in the host response with or without pre-infection of *C. albicans* by using a murine model of oral candidiasis. We would like to discuss the role of pre-infection in oral candidiasis.

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

---



---

## 1-PMS11 阻害剤スクリーニングによる多能性制御因子の同定

---

○大本 美奈, 寺島 実遥, 三宅 夏穂, 森内 快郁, 邵 文華, 毛利 安宏,  
工藤 保誠

徳大 口腔生命科学

胚性幹細胞や iPS 細胞などの多能性幹細胞における多能性維持および分化制御機構の解明は、その機構に基づいた初期化や分化誘導への応用に繋がる。近年、各種阻害剤化合物を用いて多能性を簡便に制御・維持する手法が確立されており、その一例として、HDAC 阻害剤を用いてヒト iPS 細胞をプライム型からナイーブ型へリセットする手法がある。遺伝子導入法と比較して低分子化合物による多能性幹細胞の制御は、コスト・再現性、スクリーニング系構築の簡便さなど、様々な面でメリットが多い。このような背景を踏まえ、我々は 364 種類の阻害剤ライブラリーを用いて、ヒト iPS 細胞の多能性に影響を与える阻害剤のスクリーニングを行った。各阻害剤を添加した条件下でヒト iPS 細胞を 48 時間培養し、多能性の指標として、OCT4 の発現を蛍光免疫染色によって検討した。その結果、iPS 細胞の核サイズを変化させる薬剤グループ、OCT4 染色強度を増強させる薬剤グループを同定した。iPS 細胞の核サイズを変化させる薬剤グループには Aurora kinase や ROCK などの既知の多能性制御因子の阻害剤が含まれていた。一方、OCT4 発現を増強させる薬剤グループには、受容体型チロシンキナーゼの阻害剤が複数含まれており、多能性維持に受容体型チロシンキナーゼが重要な役割を果たしている可能性を示唆している。現在、多能性幹細胞における受容体型チロシンキナーゼ分子群の発現、受容体型チロシンキナーゼ阻害剤処理による iPS 細胞の性状変化の詳細に関して検討を行っている。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

### Identification of pluripotency regulators by inhibitor screening

---

○Omoto M, Terashima M, Miyake N, Moriuchi K, Shao W, Mouri Y, Kudo Y

Dept Oral Biosci, Tokushima Univ

Elucidation of the mechanisms on the regulation of pluripotency and differentiation in pluripotent stem cells will develop novel methods for reprogramming and induced differentiation. Recently, the methods to regulate and maintain the pluripotency by small molecule compounds have been established. As previously reported, HDAC inhibitors reset human iPS cells from primed to naive type. Compared to gene transfection, small molecule compounds have many advantages, such as costs, reproducibility, and simplicity in constructing screening systems for the regulation of pluripotent stem cells. Based on this background, we screened 364 inhibitors library that affect pluripotency of human iPS cells. After 48 hours of each inhibitor treatment in human iPS cells, OCT4 expression was examined by fluorescent immunostaining as an indicator of pluripotency. As a result, we identified a group of drugs that altered nuclear size and a group of drugs that enhanced OCT4 expression. The inhibitors of known pluripotency regulating factors including Aurora kinase and ROCK were identified as a group of drugs that altered nuclear size. On the other hand, the group of drugs that enhance OCT4 expression included several inhibitors of receptor tyrosine kinases, suggesting that receptor tyrosine kinases may play an important role in maintaining pluripotency.

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

---

---

## 1-PMS12 口腔癌の進展における Transforming growth factor beta-induced (TGFBI) の役割

---

○猿棒 元陽<sup>1</sup>, 邵 文華<sup>2</sup>, 山口 裕太<sup>2</sup>, 毛利 安宏<sup>2</sup>, 工藤 保誠<sup>2</sup>

<sup>1</sup>徳大 歯, <sup>2</sup>徳大 院医歯薬 口腔生命

---

上皮間葉転換 (Epithelial-to-Mesenchymal Transition: EMT) とは, 上皮細胞が上皮としての性質である細胞接着性を失い, 間葉系細胞の性質である浸潤性や遊走性を獲得していく遷移過程である。最近, 部分的上皮間葉転換 (partial-EMT) と呼ばれる EMT 誘導過程における中間段階が存在し, 新しい概念として提唱された。興味深いことに, partial-EMT 状態の癌細胞は高い遊走能, 転移能, 治療抵抗性といった悪性形質を示し, 癌の進展に重要な役割を果たす可能性が示唆されている。本研究では, 先行研究にて明らかとなった partial-EMT のマーカーである TGFBI に着目し, 口腔癌における役割を検討した。まず, 我々は TCGA に登録された頭頸部扁平上皮癌 (Head and neck squamous cell carcinoma: HNSCC) 患者の RNA-seq データを用いて TGFBI の発現を解析し, 予後との関連を検討した。その結果, TGFBI は partial-EMT スコアの高い症例で高い発現を示し, TGFBI の発現の高い症例は予後不良であることが明らかとなった。次に, HNSCC 培養細胞株における TGFBI の発現をリアルタイム PCR 法により検討した。Ho-1-U-1 細胞および HSC3 細胞は, 他の細胞株に比べて低い発現を示し, OSC20 細胞および KON 細胞は高い発現を示していた。そこで, 発現の低い Ho-1-U-1 細胞および HSC3 細胞に TGFBI を過剰発現させ, OSC20 細胞および KON 細胞に siRNA を用いて knockdown させた。現在, その細胞を用いて, 増殖, 浸潤などの phenotype を検討中である。

**【利益相反】** 利益相反状態にはありません。

---

## The role of Transforming growth factor beta-induced (TGFBI) in the progression of oral cancer

---

○Sarubo M<sup>1</sup>, Shao W<sup>2</sup>, Yamaguchi Y<sup>2</sup>, Mouri Y<sup>2</sup>, Kudo Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tokushima Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Oral Biosci Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

---

Epithelial-to-Mesenchymal Transition (EMT) is the process showing that epithelial cells lose their epithelial properties via loss of cell-cell adhesion and acquire mesenchymal properties via promoting invasiveness and migration. Recently, an intermediate state of the EMT process, partial-EMT is proposed as a new concept. Interestingly, cancer cells in the partial-EMT state show malignant behaviors, suggesting that partial-EMT may play an important role in the progression of cancer. In this study, we focused on TGFBI, a previously identified marker of partial-EMT and investigated its role in oral cancer. First, we analyzed the correlation between TGFBI expression and prognosis using RNA-seq data from TCGA-registered Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) patients. As a result, TGFBI expression is well correlated with HNSCC patients with high partial-EMT score and poor prognosis of HNSCC patients. Next, we examined the expression of TGFBI in HNSCC cell lines by real-time PCR. Among HNSCC cell lines, Ho-1-U-1 cells and HSC3 cells showed lower expression, and OSC20 cells and KON cells showed higher expression. Therefore, TGFBI was overexpressed in Ho-1-U-1 cells and HSC3 cells, and OSC20 cells and KON cells were knocked down using siRNA. Currently, we are investigating phenotypes such as proliferation and infiltration in these cells.

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

---

---

## 1-PMS13 分泌型シアル酸認識レクチンとケモカイン MPC-1 を用いた関節リウマチの新規治療法の開発

---

○猿山 善章, 森岡 莉彩, 加納 史也, 橋本 登, 山本 朗仁

徳大 院医歯薬 組織再生制御

---

【背景】関節リウマチ(RA)は多発性関節炎を主徴とする原因不明の自己免疫疾患である。重度の関節損傷を伴う関節リウマチ患者は国内 14-28 万人とされている。生物学的製剤により RA の治療成績は改善したが、破壊された関節や関節機能障害を改善する効果は小さくなく、より強く関節の再生を促す治療法の開発が望まれる。【目的】本研究では、歯髄幹細胞培養上清のセクレトーム解析によって同定した再生因子である分泌型 Siglec-9 と単球走化因子 MCP-1 (sSiglec-9/MCP-1) を、RA マウスモデルに投与し治療効果を検討した。【材料および方法】抗コラーゲンカクテル抗体誘導マウス関節炎(CAIA)モデルを作成し症状極期に sSiglec-9/MCP-1 を静脈内投与した。対照群には PBS を投与した。四肢の炎症を関節の腫脹スコアリングを用いて毎日測定し評価した。観察期間終了時にマイクロ CT によって骨面積と骨密度を測定した。下肢を脱灰後に組織学的解析 (H-E, トルイジンブルー, TRAP 染色) を行った。【結果】sSiglec-9/MCP-1 群は、PBS 群に比べて有意に四肢の腫脹が縮小した。マイクロ CT では、投与前と PBS 群に比べて、Siglec-9/MCP-1 群では骨面積と密度が有意に改善した。組織学的評価では、PBS 群で滑膜細胞の激しい増殖・異形、骨吸収像が観察された。sSiglec-9/MCP-1 群でも滑膜細胞の増殖を認めたが、骨組織への細胞浸潤は停止し、層板構造の形成を認めた。投与前と PBS 投与群と比べ、sSiglec-9/MCP-1 投与群では関節損傷が著しく改善した。また TRAP 陽性破骨細胞数も sSiglec-9/MCP-1 投与群で有意に減少した。【結論】sSiglec-9/MCP-1 は RA モデルマウスの関節破壊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。

---

## Development of a novel treatment for rheumatoid arthritis using soluble sialic acid binding lectin and MCP-1

---

○Sayama Y, Morioka R, Kano F, Hashimoto N, Yamamoto A

Dept Anat Histol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci

---

[Background] Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disease of unknown cause with arthritis as the main symptom. Although RA symptoms are improved by the biological agent, they are less effective in improving joint destruction and joint dysfunction. [Purpose] In this study, we investigated the therapeutic effect of secretory Siglec-9 (sSiglec-9) and MCP-1, regenerative factors identified by secretome analysis of dental pulp stem cell culture supernatant, on RA mouse model. [Materials and methods] Mouse RA model was established by administration of the multiple anti-collagen type II antibodies (CAIA). At the peak of RA symptom, sSiglec-9/MCP-1 was administered intravenously. The therapeutic efficacy was evaluated by RA score (swelling of the paws and redness), bone area and density analysis by micro-CT and histological examination by HE, toluidine blue, TRAP staining. [Results] RA mice treated with sSiglec-9/MCP-1 had significantly improved RA scores. Micro-CT analysis showed significant improvement in bone area and bone density after sSiglec-9/MCP-1 treatment. Synovial cell proliferation was observed in both sSiglec-9/MCP-1 and PBS-treated groups, while bone erosion was strongly inhibited by sSiglec-9/MCP-1 but not by PBS. [Conclusion] sSiglec-9/MCP-1 suppresses bone and cartilage destruction in arthritis model mice and may be therapeutic for RA patients.

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

---

The 64th Annual Meeting of Japanese  
Association for Oral Biology  
September 17 (Sat) – 19 (Mon), 2022  
Tokushima University,  
Tokushima, JAPAN



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



**Special lecture accorded by the LOTTE Foundation 1 (September 17, 14 : 30-15 : 40)**

SL1

The supercomputer 'Fugaku' and its applications to medical and pharmaceutical fields for Society5.0/SDGs

Matsuoka S

Director, RIKEN Center for Computational Science

**Special lecture accorded by the LOTTE Foundation 2 (September 18, 13 : 00-15 : 00)**

SL2-1

Near infrared photoimmunotherapy of cancer

Kobayashi H

Molecular Imaging Branch, National Cancer Institute, NIH

SL2-2

Next-generation proteomics opens new horizons in medical biology : Unraveling a century-old enigma of cancer metabolism

Nakayama K

Med Inst Bioreg, Kyushu Univ

**Lecture by JAOB/Lion Dent Research Awards Winner (September 18, 15 : 10-15 : 40)**

L-1

Exploring the pathophysiology of sleep bruxism

Kato T

Dept Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent

**Lectures by JAOB/Rising Members Awards Winner (September 18, 15 : 40-16 : 20)**

JR-1

Extracellular vesicles enriched with moonlighting metalloproteinase are highly transmissive, pro-tumorigenic, and trans-activates cellular communication network factor (CCN2/CTGF) : CRISPR against cancer

Okusha Y<sup>1,2</sup>, Eguchi T<sup>1,3</sup>, Tran MT<sup>1</sup>, Sogawa C<sup>1</sup>, Yoshida K<sup>4</sup>, Itagaki M<sup>1,5</sup>, Taha EA<sup>1,6,7</sup>, Ono K<sup>8</sup>, Aoyama E<sup>3</sup>, Okamura H<sup>9</sup>, Kozaki KI<sup>1</sup>, Calderwood SK<sup>2</sup>, Takigawa M<sup>3</sup> and Okamoto K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Dent Pharmacol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup>Dept Rad Oncol, Beth Israel Deaconess Med Cent, Harvard Med Sch, <sup>3</sup>Adv Res Cent for Oral and Craniofac Sci, Okayama Univ Dent Sch, <sup>4</sup>Dept Oral Healthcare Edu, Inst Biomed Sci, Tokushima Univ Grad Sch, <sup>5</sup>Res program for undergraduate students, Okayama Univ Dent Sch, <sup>6</sup>Dept Med Bioengin, Okayama Univ Grad Sch Nat Sci Tech, <sup>7</sup>Dept Biochem, Ain Shams Univ Fac Sci, <sup>8</sup>Dept Oral and Maxillofac Surg, Okayama Univ Hosp, <sup>9</sup>Dept Oral Morphol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

JR-2

The YAP-PIEZO1 axis promotes cell proliferation of oral squamous cell carcinoma

Hasegawa K

Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent

JR-3

Osseointegration revealed by nano-scale direct bonding between zirconia and apatite

Saito M M, Onuma K, Yamamoto R, Yamakoshi Y

Dept Biochem Mol Biol, Sch Dent Med, Tsurumi Univ

**Educational special lecture (September 19, 12 : 30-14 : 00)**

TIPS to make a abstract and cover letter using the effective English writing and permission to share an article (in cooperation with Elsevier Japan)

Ohshima H<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup>Vice EIC of J Oral Biosci

**Main symposium 1 (September 17, 15 : 50-17 : 20)**

MS1-1

Mechano-stimulation in tendons and periodontal ligament

Asahara H<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dept Systems BioMedicine, Tokyo Med Dent Univ, <sup>2</sup>Dept Mol Med, Scripps Res

MS1-2

Developmental origin of hair follicle stem cells

Fujiwara H

RIKEN Cent for Biosystems Dynamics Res (BDR)

MS1-3

In vivo analysis of stem cells responsible for hard tissue formation

Mizoguchi T

Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll

**Main symposium 2 (September 18, 10 : 10-11 : 40)**

MS2-1

Mechanisms for onset and exacerbation of infectious diseases imputable to “oral bacteria-virus-host interactions”

Kamio N, Imai K

Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent

MS2-2

Boosting new arms to tackle pathogen-transmitting mosquito

Kanuka H

Dept Trop Med, Jikei Univ Sch Med

MS2-3

Mammalian evolution by virus symbiosis and retroviruses

Miyazawa T

Virus-Host Coevolution, Inst for Life and Med Sci, Kyoto Univ

**Main symposium 3 (September 19, 8 : 40-10 : 10)**

MS3-1

Mechanisms of peripheral taste perception : A research approach by using drugs inducing taste disorders

Shigemura N<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>2</sup>Res Deve Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ

MS3-2

Mechanisms of gustatory information processing in the cerebral cortex

Kobayashi M

Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent

MS3-3

Progress and future prospects of human taste and smell research—Visualization of taste and smell recognition mechanisms using non-invasive method

Sahara Y

Div Interdiscipl Integr, Liaison Cent Innov Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent

#### **Main symposium 4 (September 19, 12 : 30-14 : 00)**

MS4-1

Revision of the Model Core Curriculum for Dental Education —Aiming to train good dentists—

Kawano F

Grad Sch Inst Biomed Sci, Dept Comprehensive Dent, Tokushima Univ

MS4-2

Model Core curriculum for Dental Education : changes made in the field of basic sciences in this revision

Terunuma M

Div Oral Biochem, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

MS4-3

Fostering research mind through Student Laboratory and Medical Research Practice in Tokushima Univ Faculty of Medicine

Nomaguchi M<sup>1</sup>, Yasutomo K<sup>2</sup>, Katagiri T<sup>3</sup>, Abe M<sup>4</sup>, Nishioka Y<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Dept Microbiol, Grad Sch Med, Tokushima Univ, <sup>2</sup>Dept Immunol and Parasitol, Grad Sch Med, Tokushima Univ, <sup>3</sup>Div Genome Med, Inst Adv Med Sci, Tokushima Univ, <sup>4</sup>Dept Hematol, Endocrinol and Metabolism, Grad Sch Med, Tokushima Univ, <sup>5</sup>Dept Respirat Med Rheumatol, Grad Sch Med, Tokushima Univ

MS4-4

What I learned in DDS-PhD course

Watanabe T

Dept Prev Med, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

#### **Innovation Roadmap Symposium (September 19, 10 : 20-12 : 20)**

IRS-1

Systemic changes and their characteristics with aging —with a focus on frailty and sarcopenia—

Sugimoto K

Gen Geriatr Med, Kawasaki Med Sch

IRS-2

Skeletal muscle controls the onset of dementia : Unbeneficial molecule is secreted from atrophied skeletal muscle and is delivered to the brain

Tohda C, Iki T

Sect Neuromed Sci, Inst Nat Med, Univ Toyama

IRS-3

Effect of age-associated diseases on chew and swallow in vivo animal model

Inoue M, Tsujimura T, Magara J, Nakajima Y, Chotirungsan T, Tsutsui Y, Kawada S

Div Dysphagia Rehabil, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

IRS-4

Roles of Phox2b-expressing neurons in generation of rhythmic jaw movement and control of salivation in the rat

Inoue T<sup>1</sup>, Nakayama K<sup>1</sup>, Nakamura S<sup>1</sup>, Kajiwaru R<sup>2</sup>, Mochizuki A<sup>1</sup>, Dantsuji M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Anesth, Showa Univ Sch Dent

**Science Council of Japan Symposium (September 17, 17 : 30-19 : 00)**

SCJS-1

Development of novel therapeutic strategies targeting tumor microenvironment network signals

Watabe T

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

SCJS-2

Elucidation of vascular pathol in cancer and infectious diseases

Maishi N, Hida K

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

SCJS-3

Periodontal pathogenic bacteria causing barrier dysfunction and impaired vascular repair

Tada H

Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

SCJS-4

Cell-to-cell communication governing organotypic vasculature

Kubota Y

Dept Anat, Keio Univ Sch Med

**Symposium by “Network for International Education and Research in Advanced Dental Sciences (September 18, 18 : 10-19 : 40)**

AD-1

Specific T cell and B cell subsets in COVID-19

Kaneko N<sup>1,2</sup>, Moriyama M<sup>2,3</sup>, Maehara T<sup>2</sup>, Nakamura S<sup>2</sup>, Pillai S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ragon Inst MGH, MIT and Harvard

<sup>2</sup>Sect Oral Maxillofac Oncol, Div Maxillofac Diagnos Surg Sci, Fac Dent Sci, Kyushu Univ

<sup>3</sup>OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ

AD-2

Challenge for the discovery of a new type of bone marrow skeletal stem cells

Matsushita Y

Dept Cell Biol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

AD-3

International collaboration to establish the fundamental mechanism and clinical application of placental medicine

Kusuyama J

FRIS, Tohoku Univ

AD1-4

Study about food odor preference in the US during COVID-2019 lockdown

Horio N<sup>1</sup>, Liberles S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Harvard Med Sch, Dept Cell Biol, <sup>2</sup>Howard Hughes Med Inst

**Update symposium 1 (September 18, 8 : 30-10 : 00)**

US1-1

Cells responsible for resorption of calcified tissues during mandibular development

Nakamura M, Yang MC, Sasano Y



Div Craniofac Dev Tissue Biol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

US1-2

Biological function of RANKL and Siglec-15 on osteoclast differentiation and function

Hasegawa T<sup>1</sup>, Yamamoto T<sup>1,2</sup>, Hongo H<sup>1</sup>, Miyamoto Y<sup>1</sup>, Muneyama T<sup>1</sup>, Fukuda C<sup>3</sup>, Tsuda E<sup>3</sup>, Amizuka N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Deve Biol Hard Tissue, Fac Dent Med, Hokkaido Univ, <sup>2</sup>JGSDF Nort Nort Army Med Ser, <sup>3</sup>Spe Med Res Lab I, Daiichi Sankyo Co, Ltd

US1-3

Septoclasts, uncalcified cartilage resorptive cells, expressing epidermal fatty acid-binding protein (E-FABP/FABP5)

Bando Y<sup>1</sup>, Onozawa G<sup>1,2</sup>, Nagasaka A<sup>1</sup>, Sakiyama K<sup>3</sup>, Amano O<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Histol Meikai Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Div Oral Maxillofac Surg Meikai Univ Sch Dent, <sup>3</sup>Div Anat Meikai Univ Sch Dent

### **Update symposium 2 (September 18, 8 : 30-10 : 00)**

US2-1

Investigation of cortical areas processing the information from orofacial regions by an optical imaging technique

Fujita S

Dept Biol, Nihon Univ Sch Dent

US2-2

Higher brain projection and function of the proprioception arising from the jaw-closing muscle spindles

Tsutsumi Y<sup>1</sup>, Sato F<sup>1</sup>, Furuta T<sup>1</sup>, Tachibana Y<sup>2</sup>, Yoshida A<sup>1</sup>

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

US2-3

The role of serotonergic system in jaw movement control

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

Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent

US2-4

The relationship between occlusion, mastication, and brain function as interpreted from the specificity of the trigeminal mesencephalic nucleus

Goto T, Kuramoto E

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

### **Update symposium 3 (September 18, 16 : 30-18 : 00)**

US3-1

Overview : Dentistry and Osteoimmunology

Tsukasaka M

Dept Immunol Grad Sch Med Fac Med, The Univ Tokyo

US3-2

Elucidation of oral aging mechanisms and development of aging-related oral disease treatments focusing on the senescent stem cell niche

Maekawa T

Cent for Adv Oral Sci, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci

US3-3

Three-dimensional ultrastructural analysis of bone-resorbing osteoclasts suggested novel functions of

osteoclasts

Hosonuma M<sup>1,2</sup>, Sakai N<sup>2,3</sup>, Matushima H<sup>4</sup>, Takami M<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Dept Clin Immuno Oncol, Clin Res Inst for Clin Pharmacol Therapeut, Showa Univ, <sup>2</sup>Pharmacol Res Cent, Showa Univ, <sup>3</sup>Dept Pharmacol, Sch Dent, Showa Univ, <sup>4</sup>Japan Electron Optics Laboratory Ltd.

US3-4

Distinct cellular origins of the fetal cartilage dictate bone marrow stromal cell heterogeneity

Matsushita Y

Dept Cell Biol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci

US3-5

The effect of oral dysbiosis on glucose/lipid metabolism

Katagiri S

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

US3-6

Coupling of angiogenesis and odontogenesis orchestrates tooth mineralization in mice

Matsubara T, Kubota Y

Dept Anat, Keio Univ Sch Med

#### **Update symposium 4 (September 18, 16 : 30-18 : 00)**

US4-1

How oral bacteria contribute to the onset of periodontitis? —Bacterial effects on the glucose metabolic activity of host cells—

Otani H<sup>1,2</sup>, Washio J<sup>1</sup>, Liu S<sup>1</sup>, Sasaki S<sup>1</sup>, Yamada S<sup>2</sup>, and Takahashi N<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Oral Ecol and Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Div Periodontol and Endodontol, Tohoku Univ Grad Sch Dent

US4-2

Profiling of microbiota in the remaining green tea in plastic bottles after direct drinking

Wakui A<sup>1</sup>, Kawachi M<sup>1</sup>, Takahashi N<sup>1</sup>, Kaku N<sup>1</sup>, Maruyama S<sup>1</sup>, Miyazawa M<sup>1</sup>, Abe T<sup>1</sup>, Sato A<sup>1</sup>, Washio J<sup>2</sup>, Takahashi N<sup>2</sup>, Sato T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Div Clin Chem, Niigata Univ Grad Sch Health Sci, <sup>2</sup>Div Oral Ecol&Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent

US4-3

Investigation of oral-gut immune responses in a mouse model of periodontitis

Kobayashi R, Senpuku H

Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo

US4-4

In vitro study on effective control of oral biofilm by Cetylpyridinium Chloride (CPC)

Akiyama T<sup>1</sup>, Yamaguchi E<sup>1</sup>, Inubushi J<sup>1</sup>, Muto N<sup>2</sup>, Obana N<sup>3</sup>, Nomura N<sup>4</sup>

<sup>1</sup>R&D Dept, Sunstar Inc, <sup>2</sup>Grad Sch Life Environ Sci, Univ Tsukuba, <sup>3</sup>TRMC, Fac Med, Univ Tsukuba,

<sup>4</sup>Fac Life Environ Sci, Univ Tsukuba

US4-5

Impact of  $\beta$ -glucan metabolism on the development of co-biofilm with *T forsythia* and *F nucleatum*

Honma K<sup>1</sup>, Sasaki H<sup>1,2</sup>, Sharma A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept Oral Biol, Univ at Buffalo, SUNY, <sup>2</sup>Div Microbiol, Dept Oral Sci, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent

**Update symposium 5 (September 19, 14 : 10-15 : 40)**

US5-1

Tumor endothelial cells and cancer immunity

Hida K

Vascular Biol & Mol Biol, Grad Sch Dent Med, Hokkaido Univ

US5-2

New function of cellular senescence in the cancer microenvironment

Takahashi A

Cellular Senescence, Cancer Inst, JFCR

US5-3

Mechanisms of myeloma bone disease and controlling of tumor growth through bone lineage cell

—Development of novel anti-myeloma agents with potent bone anabolic actions—

Teramachi J

Dept Oral Funct Anat, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci

US5-4

The mechanism on invasion & metastasis of oral cancer

Kudo Y

Dept Oral Biosci, Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci

**Update symposium 6 (September 19, 14 : 10-15 : 40)**

US6-1

Regulatory mechanisms of cellular function by the interaction between sialic acid-recognizing lectins and recognized sugar chains

Furukawa K<sup>1</sup>, Hashimoto N<sup>2</sup>, Ilhamjan S<sup>3</sup>, Yamamoto A<sup>2</sup>, Ohmi Y<sup>4</sup>, Furukawa K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Chubu Univ Dept Life Health Sci, Biomed Sci, <sup>2</sup>Tokushima Univ Dept Tissue Regen Dept Biomed Sci,

<sup>3</sup>Nagoya Univ Grad Sch Med Dept Biochem, <sup>4</sup>Clin Engin, Chubu Univ

US6-2

Sialic acid-binding lectins and immune responses

Tsubata T

Dept Pathol, Nihon Univ Sch Dent

US6-3

Siglec-15 plays an important role in osteoclast differentiation, function of bone resorption and osteoblast differentiation

Udagawa N<sup>1</sup>, Nakamura M<sup>1</sup>, Koide M<sup>2</sup>, Kobayashi Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ

US6-4

Development of joint regeneration drugs using sialic acid recognition lectins

Yamamoto A<sup>1</sup>, Hashimoto N<sup>1</sup>, Kano F<sup>1</sup>, Linze X<sup>2</sup>, Cheng D<sup>1</sup>, Tanaka E<sup>2</sup>, Takahashi N<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept Tissue Regen and <sup>2</sup>Orthodont and Dentofac Orthoped, Inst Biomed Sci, Tokushima Univ Grad Sch,

<sup>3</sup>Dept Orthopedic Surg, Aichi Med Univ

## ■ Oral Presentations

### (September 18, 8 : 30-9 : 20) Tooth & Dental Pulp-1

<b>2-O1-D1</b>	Improvement of acid resistance of enamel by acid monofluorophosphate sodium fluoride application ○Satou R, Iwasaki M, Sugihara N (Dept Publ Health, Tokyo Dent Coll)
<b>2-O1-D2</b>	Effect of dentin acid resistance by topical fluoride application with nano-sized alpha-tricalcium phosphate ○Iwasaki M, Satou R, Sugihara N (Dept Publ Health, Tokyo Dent Coll)
<b>2-O1-D3</b>	Analysis of dentin properties of <i>Amelx-tdTomato</i> mice with enamel dysplasia-like phenotype and <i>Dspp-GFP</i> mice with dentin dysplasia-like phenotype ○Isono K, Matsuyama K, Yamazaki H (Dept Stem Cell Develop Biol, Mie Univ Grad Sch Med)
<b>2-O1-D4</b>	The role of intraflagellar transport protein 88 in pre-odontoblastic proliferation ○Kawata K <sup>1</sup> , Aoyama E <sup>2</sup> , Kubota S <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med, Dent Pharm Sci, <sup>2</sup> Okayama Univ, Dent Sch, ARCOCS)
<b>2-O1-D5</b>	Induction of differentiation into odontoblasts using human-derived iPS cells ○Nozoe A, Miyagawa K, Nakano C, Tanaka S (1st Dept OMFS, Osaka Univ Grad Sch of Dent)

### (September 18, 9 : 20-10 : 00) Tooth & Dental Pulp-2

<b>2-O2-D1</b>	Role of autophagy in ameloblast differentiation ○Ida-Yonemochi H <sup>1</sup> , Otsu K <sup>2</sup> , Harada H <sup>2</sup> , Ohshima H <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Div Dev Bio Reg Med, Iwate Med Univ Sch Dent)
<b>2-O2-D2</b>	The interaction between osteopontin and stem/progenitor cells determines the pulpal healing following tooth replantation in mice ○Quispe-Salcedo A <sup>1</sup> , Suzuki-Barrera K <sup>1</sup> , Nakatomi M <sup>2</sup> , Ida-Yonemochi H <sup>1</sup> , Ohshima H <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Dept Human, Information and Life Sci, Sch Health Sci, Univ of Occupational and Environmental Health)
<b>2-O2-D3</b>	Assessment of tetracycline-stained teeth using FTIR imaging and IR dichroism imaging ○Nakamura F, Kimura-Suda H (Dept Sci Tech, Chitose Inst Sci Tech Grad Sch of Sci Tech)
<b>2-O2-D4</b>	Application of artificial intelligence to dental science: Mandibular premolars and mandibular molars ○Igarashi Y <sup>1</sup> , Kondo S <sup>1</sup> , Aibara M <sup>2</sup> , Kaneko M <sup>2</sup> , Uchikoba F <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>2</sup> Dept Precision Machinery Engineering, Nihon Univ Coll of Sci and Technol)

### (September 18, 8 : 30-9 : 10) Inflammation & Immunity-1

<b>2-O3-E1</b>	Inhibition of xanthine oxidase protects heart from <i>Porphyromonas gingivalis</i> lipopolysaccharide-induced cardiac dysfunction ○Morii A <sup>1</sup> , Suita K <sup>2</sup> , Matsuo I <sup>1</sup> , Ito A <sup>3</sup> , Kiyomoto K <sup>1</sup> , Tsunoda M <sup>1</sup> , Nariyama M <sup>4</sup> , Ohnuki Y <sup>2</sup> , Gomi K <sup>1</sup> , Okumura S <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Periodont, <sup>2</sup> Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Physiol, <sup>3</sup> Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Orthodont, <sup>4</sup> Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Pediatr Dent)
<b>2-O3-E2</b>	YAP/TAZ mechanosignaling regulates cytoprotective factors production in mesenchymal stem cells ○Yoshii H <sup>1</sup> , Kajiya M <sup>1,2</sup> , Yoshino M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Periodontal Med, Hiroshima Univ Grad Sch of Biomed Health Sci, <sup>2</sup> Dept Innovation & Precision Dent, Hiroshima Univ Hosp Dent)
<b>2-O3-E3</b>	T cell-dependent regulatory roles of 18-kDa Translocator protein (TSPO) ○Sendai Y <sup>1</sup> , Ichinohe T <sup>1</sup> , Azuma T <sup>2</sup> , Ohno T <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Biochem, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup> Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll)
<b>2-O3-E4</b>	Effect of eggshell-derived hydroxyapatites on enhancement of mucosal immunity ○Hashizume-Takizawa T <sup>1</sup> , Mochizuki C <sup>2</sup> , Saito M <sup>1</sup> , Shinozaki-Kuwahara N <sup>1</sup> , Kobayashi R <sup>1</sup> , Sempuku H <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>2</sup> BIOAPATITE, INC)

### (September 18, 9 : 10-9 : 50) Inflammation & Immunity-2

<b>2-O4-E1</b>	The functional role of neutrophil extracellular traps in RANKL-induced osteoclastogenesis ○Numazaki K <sup>1,2</sup> , Tada H <sup>1</sup> , Matsushita K <sup>3</sup> , Mizoguchi I <sup>2</sup> , Sugawara S <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Div Orthod Dentofac Orthop, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Oral Dis Res, NCGG)
<b>2-O4-E2</b>	Frequently detectable severe human periodontitis bacteria cause gut immunity in a mouse model ○Ikeda E <sup>1</sup> , Nagai S <sup>1</sup> , Ishihara K <sup>2</sup> , Ikeda Y <sup>3</sup> , Azuma M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci Dept Mol Immunol, <sup>2</sup> Tokyo Dent Coll Dept Microbiol, <sup>3</sup> Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci Dept Periodontol)
<b>2-O4-E3</b>	VSI4, a new B7 family immune checkpoint ligand, directly regulates early CD8 + T cell activation through its counter-receptor ○Widiyagarini A, Zhang C, Azuma M (Dept Mol Immunol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>2-O4-E4</b>	Effect of nuclear-translocated CCN2 on the expression of PU.1 related to fibrosis ○Nishida T <sup>1,2</sup> , Takigawa M <sup>2</sup> , Kubota S <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup> ARCOCS, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)

### (September 18, 8 : 30-9 : 00) Tumor-1

<b>2-O5-F1</b>	RAF1-MEK/ERK pathway-dependent ARL4C expression promotes ameloblastoma cell proliferation and osteoclast formation ○Fujii S <sup>1,2</sup> , Jimi E <sup>3,4</sup> , Kiyoshima T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Sect Oral Pathol, Grad Sch Dent, Sect Kyushu Univ, <sup>2</sup> DDR Cent, Grad Sch Dent, Sect Kyushu Univ, <sup>3</sup> OBT Cent, Grad Sch Dent, Sect Kyushu Univ, <sup>4</sup> Sect Mol Cell Biochem, Grad Sch Dent, Sect Kyushu Univ)
----------------	---



<b>2-O5-F2</b>	alpha-TAT1-induced tubulin acetylation promotes ameloblastoma cell migration and invasion ○Yoshimoto S <sup>1</sup> , Okamura K <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pathol, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup> Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll)
<b>2-O5-F3</b>	p63 signaling and YAP signaling cooperatively regulate intracellular signaling and DNA methylation in oral squamous cell carcinoma ○Hasegawa K <sup>1</sup> , Fujii S <sup>1,2</sup> , Kiyoshima T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Sect Oral Patho, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dento-craniofacial Development and Regeneration Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>2-O5-F4</b>	(withdrawn)

(September 18, 9 : 10-9 : 40) Tumor-2

<b>2-O6-F1</b>	Near-infrared photoimmunotherapy using protein mimetic for EGFR over-expressing salivary gland cancer ○Yamaguchi H <sup>1</sup> , Sakadume H <sup>2</sup> , Itagaki T <sup>1</sup> , Morita T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Biochem, Sch Life Dent at Niigata, Nippon Dent Univ, <sup>2</sup> Oral & Maxillofacial Surgery and Systemic Med, Nippon Dent Univ at Niigata)
<b>2-O6-F2</b>	Construction of a partial epithelial-mesenchymal transition based prediction model for HNSCC prognosis ○Mouri Y, Kisoda S, Kudo Y (Dept Oral BioSci, Tokushima Univ)
<b>2-O6-F3</b>	CCN6 suppresses BMP2-induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) of human oral cancer cells via inhibition of Smad1/5/8 phosphorylation ○Hochi H <sup>1</sup> , Nishida T <sup>1,2</sup> , Takigawa M <sup>2</sup> , Kubota S <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup> Adv Res Cent Oral Craniofacial Sci, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)

(September 19, 10 : 00-10 : 50) Microorganism-1

<b>3-O7-D1</b>	Autoinducer Analog-1 (AIA-1) decreases antibiotic tolerance of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> through prnR and PA0066-65-64 expression ○Pahlevi M <sup>1</sup> , Murakami K <sup>1,2</sup> , Murakami A <sup>1</sup> , Fujii H <sup>1,3</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Microbiol Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, <sup>2</sup> Kawasaki Univ Med Welfare, <sup>3</sup> Keio Univ)
<b>3-O7-D2</b>	Purification and identification of an anti-periodontal pathogenic-bacterial active substance derived from bilberry ○Sato Y <sup>1,2</sup> , Ishihara K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Natural Products Chemistry, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup> Dept Microbiol, Tokyo Dent Coll)
<b>3-O7-D3</b>	Protein secretion mechanisms of <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Shoji M, Yukitake H, Naito M (Dept Micro Oral Infect, Nagasaki Univ, Grad Sch Biomed Sci)
<b>3-O7-D4</b>	Fate of <i>Porphyromonas gingivalis</i> outer membrane vesicles intravenously administered to mice ○Uchiyama H <sup>1,3</sup> , Miyazaki H <sup>2</sup> , Yamaguchi T <sup>3</sup> , Nakao R <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Dept Surg, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Dept Oculoplastic and Orbital Surg, Aichi Med Univ, <sup>3</sup> Dept Bacteriol I, Natl Inst Infect Dis)
<b>3-O7-D5</b>	Detection of collagen-binding protein (Cnm) complex in <i>Streptococcus mutans</i> culture supernatant ○Murata T (Dept Oral Health, Tsurumi Univ Sch Dent Med)

(September 19, 10 : 50-11 : 40) Microorganism-2

<b>3-O8-D1</b>	Elucidation of the mechanism by which aging plays a role in the severity of pneumococcal pneumonia ○Yamaguchi M, Kobayashi M, Ono M, Kawabata S (Dept Oral & Mol Microbiol, Osaka Univ, Grad Sch Dent)
<b>3-O8-D2</b>	Evaluation of the fructose metabolism in oral <i>Veillonella</i> as a novel nature ○Mashima I <sup>1</sup> , Nakazawa F <sup>2</sup> , Kiyoura Y <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Med Sci, Sch Dent, Ohu Univ, <sup>2</sup> Dept Oral Biol, Fac Dent, Univ Indonesia)
<b>3-O8-D3</b>	Susceptibility of disinfectants against cephalosporin-resistant Gram-negative bacteria isolated from oral cavity ○Haruta A <sup>1</sup> , Matsuo M <sup>2,3</sup> , Yoshikawa M <sup>1</sup> , Takeuchi M <sup>1</sup> , Le MN <sup>1</sup> , Tsuga K <sup>1</sup> , Komatsuzawa H <sup>2,3</sup> ( <sup>1</sup> Dept Adv Prosthodont, Hiroshima Univ Grad Sch of Biomed Health Sci, <sup>2</sup> Dept Bacteriol, Hiroshima Univ Grad Sch of Biomed Health Sci, <sup>3</sup> Project Res Cent, Nosocomial Infect Dis, Hiroshima Univ)
<b>3-O8-D4</b>	Effect of Brazilian propolis from the state of Bahia on oral bacteria ○Takigawa H, Mashimo C, Nambu T, Maruyama H, Okinaga T (Dept Bacteriol, Osaka Dent Univ Grad Sch Dent)
<b>3-O8-D5</b>	Role of cardiac adenylyl cyclase on cardiac dysfunction induced by <i>Porphyromonas gingivalis</i> LPS in mice ○Tsunoda M <sup>1,2</sup> , Ohnuki Y <sup>2</sup> , Suita K <sup>2</sup> , Matsuo I <sup>1,2</sup> , Hayakawa Y <sup>2,3</sup> , Kiyomoto K <sup>1,2</sup> , Morii A <sup>1,2</sup> , Nariyama M <sup>2,4</sup> , Gomi K <sup>1</sup> , Okumura S <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Periodont, <sup>2</sup> Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Physiol, <sup>3</sup> Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Dent Anesthesiol, <sup>4</sup> Tsurumi Univ Sch Dent Med Dept Pediatr Dent)

(September 19, 10 : 00-11 : 00) Salivary Gland

<b>3-O9-E1</b>	Different expression patterns of ACE2 in epithelial cells of the salivary gland and oral mucosa: Involvement of AMPK signaling ○Shikama Y, Furukawa M, Matsushita K (Dept Oral Dis Res, Natl Cent for Geriatrics and Gerontol)
<b>3-O9-E2</b>	The Syrian hamster as a model for SARS-CoV-2 infection from oral cavity ○Gojo N <sup>1</sup> , Usami Y <sup>2</sup> , Kimura T <sup>1,3</sup> , Sakai M <sup>1</sup> , Sakai T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral-Facial Disorders, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Oral pathol, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Oral Surg 2, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>4</sup> Dept Clin Lab, Osaka Univ Dent Hosp)

<b>3-O9-E3</b>	The difference of changes of salivary secretion induced by stimulation with pilocarpine and bethanechol ○Sakazume H <sup>1,2</sup> , Yamaguchi H <sup>2</sup> , Sato R <sup>3</sup> , Itagaki T <sup>2</sup> , Yoshida O <sup>4</sup> , Nezu A <sup>5</sup> , Tanimura A <sup>5</sup> , Tanaka A <sup>1</sup> , Morita T <sup>2</sup> (1Dept Oral Maxillofac Surg, Nippon Dent Univ at Niigata, 2Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, 3Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ Col at Niigata, 4Dept Pediatr Dent, Nippon Dent Univ at Niigata, 5Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent)
<b>3-O9-E4</b>	The HIF-1 $\alpha$ regulates the mTOR signaling pathway in salivary gland development ○Kimura T <sup>1,2</sup> , Sakai M <sup>3</sup> , Gojo N <sup>2</sup> , Sakai T <sup>2</sup> (1Dept Oral Surg 2, Osaka Univ Grad Sch Dent, 2Dept Oral-Facial Disorders, Osaka Univ Grad Sch Dent, 3Dept Clinical Lab, Osaka Univ Dent Hosp)
<b>3-O9-E5</b>	Therapeutic benefits of factors derived from stem cells from human exfoliated deciduous teeth for radiation-induced mouse xerostomia ○Oki W, Kano F, Nishihara T, Hashimoto N, Yamamoto A (Dept Anat Histol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)
<b>3-O9-E6</b>	Generation of artificial salivary glands using decellularization method ○Ohnuma S, Mishima K, Yasuhara R, Tanaka J, Yukimori A (Dept Oral Pathol, Showa Univ Grad Sch Dent)

(September 19, 10 : 00–10 : 40) Bone & Cartilage-1

<b>3-O10-F1</b>	Different roles of intracellular and secreted osteopontin isoforms in osteoblast differentiation ○Mardiyantoro F <sup>1,2</sup> , Seong C <sup>1,2</sup> , Chiba R <sup>2</sup> , Ohnishi T <sup>2</sup> , Matsuguchi T <sup>2</sup> (1Dept Oral Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent, 2Dept Oral Biochem Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent)
<b>3-O10-F2</b>	Inhibition of LC3 suppresses osteoclast maturation and bone destruction in periodontal disease models ○Hiura F <sup>1</sup> , Kawabata Y <sup>2</sup> , Mizokami A <sup>3</sup> , Jimi E <sup>1,3</sup> (1Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, 2Sect Aging Sci Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, 3OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>3-O10-F3</b>	Inhibitory effects on postmenopausal osteoporosis and weight gain in enriched environment ○Ju C <sup>1</sup> , Kawabata Y <sup>1</sup> , Li A <sup>1</sup> , Huang F <sup>1</sup> , Katagiri T <sup>2</sup> , Jimi E <sup>1,3</sup> (1Lab Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, 2Div Biomed Sci, RCGM, Saitama Med Univ, 3OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>3-O10-F4</b>	Identification of novel target genes of Runx2 and their functional roles in bone formation ○Takahata Y, Murakami T, Hata K, Nishimura R (Dept Mol Cell Biochem, Osaka Univ Grad Sch Dent)

(September 19, 10 : 40–11 : 20) Bone & Cartilage-2

<b>3-O11-F1</b>	S-adenosylmethionine induces chondrocytic differentiation not only as source of polyamine production but also by stimulating growth factor genes expression ○Hoangdinh L <sup>1,2</sup> , Aoyama E <sup>1</sup> , Kubota S <sup>3</sup> , Kuboki T <sup>2</sup> , Takigawa M <sup>1</sup> (1ARCOCS, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharma Sci, 2Dept Oral Rehabilitation and Reg Med, Grad Sch Med, Dent and Pharma Sci, Okayama Univ, 3Dept Biochem and Mol Dent, Okayama Univ, Grad Sch Med, Dent and Pharma Sci)
<b>3-O11-F2</b>	The regulatory mechanism of NF- $\kappa$ B signals involved in postmenopausal osteoporosis and weight gain ○Huang F <sup>1</sup> , Gao J <sup>1</sup> , Li AN <sup>1</sup> , Mizokami A <sup>2</sup> , Jimi E <sup>1,2</sup> (1Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, 2OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>3-O11-F3</b>	Conditioned medium from stem cells of human exfoliated deciduous teeth ameliorates temporomandibular joint osteoarthritis by inducing M2-polarized macrophages ○Xia L <sup>1,2</sup> , Kano F <sup>2</sup> , Hashimoto N <sup>2</sup> , Tanaka E <sup>1</sup> , Yamamoto A <sup>2</sup> (1Dept Orthod Dentofac Orthop Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, 2Dept Anat Histol Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)
<b>3-O11-F4</b>	Expression of a circular RNA from CEN2 in chondrocytes ○Kato S <sup>1,2</sup> , Kawata K <sup>1</sup> , Nishida T <sup>1</sup> , Kubota S <sup>1</sup> (1Dept Oral Biochem Mol Dent, Okayama Univ Grad Sch Med & Dent, 2Dept Oral Maxillofac Reconstr Surg, Okayama Univ Grad Sch Med & Dent)

(September 19, 14 : 10–14 : 40) Periodontal tissue

<b>3-O12-D1</b>	Periodontitis promotes gingival expression of TMPPSS2, a priming factor for SARS-CoV-2 ○Ohnishi T <sup>1</sup> , Nakamura T <sup>2</sup> , Shima K <sup>3</sup> , Noguchi K <sup>2</sup> , Chiba N <sup>1</sup> , Matsuguchi T <sup>1</sup> (1Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med and Dent Sci, 2Dept Periodontol, Kagoshima Univ Grad Sch Med and Dent Sci, 3Dept Oral Pathol, Kagoshima Univ Grad Sch Med and Dent Sci)
<b>3-O12-D2</b>	Analysis of novel regulatory mechanism of nuclear factor $\kappa$ B ○Aoki T <sup>1,2</sup> , Matsuda M <sup>2</sup> , Jimi E <sup>2</sup> (1Sect Periodontol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, 2Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>3-O12-D3</b>	Platelet-derived growth factor (PDGF-BB) regenerates functional periodontal ligament repressing ankylosis in tooth replantation ○Komatsu K, Ideno H, Nakashima K, Nifuji A (Dept Pharmacol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)

(September 19, 14 : 40–15 : 30) Muscle tissue

<b>3-O13-D1</b>	Role of renin-angiotensin system for the development of cardiac dysfunction by periodontitis ○Kiyomoto K <sup>1</sup> , Suita K <sup>2</sup> , Ohnuki Y <sup>2</sup> , Matsuo I <sup>1</sup> , Tsunoda M <sup>1</sup> , Morii A <sup>1</sup> , Ito A <sup>3</sup> , Ishikawa M <sup>4</sup> , Gomi K <sup>1</sup> , Okumura S <sup>2</sup> (1Tsurumi Univ Sch Dent Med, Dept Periodont, 2Tsurumi Univ Sch Dent Med, Dept Physiol, 3Tsurumi Univ Sch Dent Med, Dept Orthodont, 4Tsurumi Univ Sch Dent Med, Dept Oral Anat)
<b>3-O13-D2</b>	Effects of microphthalmia-associated transcription factor on oxidative stress and autophagic activity in masseter muscle ○Nariyama M <sup>1</sup> , Ohnuki Y <sup>2</sup> , Suita K <sup>2</sup> , Ishikawa M <sup>3</sup> , Ito A <sup>4</sup> , Matsuo I <sup>5</sup> , Hayakawa Y <sup>6</sup> , Asada Y <sup>1</sup> , Okumura S <sup>2</sup> (1Dept Pediatr Dent, 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, 6Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)

<b>3-O13-D3</b>	Inhibition of renin-angiotensin system protects heart from cardiac dysfunction induced by occlusal anomalies ○Ito A <sup>1</sup> , Ohnuki Y <sup>2</sup> , Suita K <sup>2</sup> , Ishikawa M <sup>3</sup> , Matsuo I <sup>4</sup> , Hayakawa Y <sup>5</sup> , Nariyama M <sup>6</sup> , Tomonari H <sup>1</sup> , Okumura H <sup>2</sup> (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)
<b>3-O13-D4</b>	Vidarabine, an anti-Herpes agent, prevents cardiac dysfunction caused by occlusal disharmony without adverse effect on heart function in mice ○Hayakawa Y <sup>1</sup> , Ohnuki Y <sup>2</sup> , Suita K <sup>2</sup> , Ishikawa M <sup>3</sup> , Ito A <sup>3</sup> , Matsuo I <sup>4</sup> , Kiyomoto K <sup>4</sup> , Tsunoda M <sup>4</sup> , Kawahara H <sup>1</sup> , Okumura S <sup>2</sup> (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)
<b>3-O13-D5</b>	Role of TLR4-NOX4 signaling on <i>Porphyromonas gingivalis</i> LPS-induced cardiac dysfunction in mice ○Matsuo I <sup>1</sup> , Suita K <sup>2</sup> , Hayakawa Y <sup>6</sup> , Ito A <sup>3</sup> , Ishikawa M <sup>4</sup> , Nariyama M <sup>5</sup> , Ohnuki Y <sup>2</sup> , Gomi K <sup>1</sup> , Okumura S <sup>2</sup> (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, 5Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med, 6Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)

(September 19, 14 : 10-14 : 50) Nerve & Vessel-1

<b>3-O14-E1</b>	Testosterone signaling enhances autophagic activity in microglia ○Du H <sup>1</sup> , Mizokami A <sup>2</sup> , Kanematsu T <sup>1</sup> , Sano T <sup>1</sup> , Yamawaki Y <sup>3</sup> (1Dept Cell Biol Aging Sci, & Pharmacol, 2OBT Res Cent, Fac Dent, Kyushu Univ, 3Lab Adv Pharmacol, Daiichi Univ Pharm)
<b>3-O14-E2</b>	Differences in autonomic vasomotor responses and their interactions during trigeminal afferent stimulation in rat gingiva ○Okada Y <sup>1</sup> , Sato T <sup>2</sup> , Islam ST <sup>2</sup> , Saitoh M <sup>1</sup> , Ishii H <sup>2</sup> (1Div Pediatr, Dept Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido, 2Div Physiol, Dept Sch Dent, Health Sci Univ Hokkaido)
<b>3-O14-E3</b>	Insular cortical projections to the trigeminal spinal subnucleus caudalis regulate pain-related behaviors in rats ○Nakaya Y, Kobayashi M (Dept Pharmacol Nihon Univ Sch Dent)
<b>3-O14-E4</b>	Analysis of oral particle discrimination in rat using preference test ○Nakatomi C <sup>1</sup> , Horie S <sup>1,2</sup> , Hsu C <sup>1</sup> , Inui T <sup>3</sup> , Ono K <sup>1</sup> (1Div Physiol, Kyushu Dent Univ, 2Div Orofac Funct Orthodont, Kyushu Dent Univ, 3Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)

(September 19, 14 : 50-15 : 30) Nerve & Vessel-2

<b>3-O15-E1</b>	bFGF uniquely disrupted quiescence of vascular smooth muscle cells, leading to proliferation and dedifferentiation ○Tsuji-Tamura K, Tamura M (Dept Oral Biochem Mol Biol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
<b>3-O15-E2</b>	Redefining <i>GBA</i> gene structure and cell-type specific gene regulation ○Miyoshi K <sup>1</sup> , Horiguchi T <sup>1</sup> , Tanimura A <sup>2</sup> (1Dept Oral Biosci, Tokushima Univ Grad Sch of Biomed Sci, 2Div Food & Health Environ Sci, Dept Environ & Symbiotic Sci, Fac Environ & Symbiotic Sci, Pref Univ of Kumamoto)
<b>3-O15-E3</b>	Regulation of pain by activation PV cells of the insular cortex using optogenetics ○Kobayashi S <sup>1,2</sup> , Fujita S <sup>2</sup> , Kobayashi M <sup>1</sup> (1Dept Pharmacol, Nihon Univ Sch Dent, 2Dept Biol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>3-O15-E4</b>	Reduced intraoral cool/cold sensitivity in short-term intranasal rotenone administrated-mice ○Sato H, Adachi K (Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent)

## ■ Poster Presentations

(September 17, 13 : 00–19 : 00)

### Anatomy (Morita Award)

<b>1-PM1</b>	Sexual dimorphism of the three-dimensional structures in the maxillary first premolar using by a homologous model ○Miyazaki J, Kondo S, Negishi S (Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, Dept Orthodont)
<b>1-PM2</b>	Investigation of anatomical and histological structures of lower jaws in adult newts ○Tsubosaki K, Taya Y, Kawamoto S, Hani T, Kudo T, Sato K, Soeno Y (Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)

### Biochemistry (Morita Award)

<b>1-PM3</b>	Exocytotic dynamics of osteocalcin and BMP2 in osteoblastic cells visualized by bioluminescence imaging ○Sugimoto H <sup>1,2</sup> , Fukuda S <sup>2</sup> , Sato T <sup>1</sup> , Miyazawa K <sup>1</sup> , Suzuki T <sup>2</sup> , Goto S <sup>1</sup> (Div Orthodont, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Biochem, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent)
<b>1-PM4</b>	Effect of midazolam on bone resorption by osteoclasts ○Harigaya H <sup>1</sup> , Karakida T <sup>2</sup> , Ookuma R <sup>2</sup> , Yamamoto R <sup>2</sup> , Kawahara H <sup>1</sup> , Yamakoshi Y <sup>2</sup> (Dept Dent Anesthesiol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup> Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
<b>1-PM5</b>	Isolation of primary osteocytes from iliac bones in human ○Nishizawa C <sup>1</sup> , Miyagawa K <sup>1</sup> , Mikuni-Takagaki Y <sup>2</sup> , Tanaka S <sup>1</sup> (1st Dept OMFS, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
<b>1-PM6</b>	The role of monocarboxylate transporter-1 in the oxygen tension-dependent chondrocyte death ○Tanaka M <sup>1,2</sup> , Miyamoto Y <sup>1</sup> , Sasa K <sup>1</sup> , Yamada A <sup>1</sup> , Shiota T <sup>2</sup> , Kamiyo R <sup>1</sup> (Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Oral Maxillofac Surg, Showa Univ Sch Dent)
<b>1-PM7</b>	Effect of glucose on TGF- $\beta_1$ -induced epithelial-mesenchymal transition in epithelial keratinocytes ○Takeishi Y, Nagaoka Y, Hatta M (Div Cell Mol Regul, Fukuoka Dent Coll)
<b>1-PM8</b>	Endoplasmic reticulum stress amplifies inflammatory response triggered by lipopolysaccharide ○Nakaminami Y, Murakami T, Takahata Y, Hata K, Nishimura R (Dept Mol Cell Biochem Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>1-PM9</b>	The functional role of neutrophil extracellular traps in RANKL-induced osteoclastogenesis ○Numazaki K <sup>1,2</sup> , Tada H <sup>1</sup> , Matsushita K <sup>3</sup> , Mizoguchi I <sup>2</sup> , Sugawara S <sup>1</sup> (Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Div Orthod Dentofac Orthop, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Oral Dis Res, NCGG)
<b>1-PM10</b>	Examination of the effect of basic fibroblast growth factor on the calcification of HUCPVC ○Yabe M <sup>1</sup> , Karakida T <sup>2</sup> , Yamamoto R <sup>2</sup> , Chiba-okuma R <sup>2</sup> , Nonoyama S <sup>1</sup> , Nagano T <sup>1</sup> , Yamakoshi Y <sup>2</sup> , Gomi K <sup>1</sup> (Dept Periodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup> Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
<b>1-PM11</b>	Effect of TGF- $\beta$ on bone resorption on osteoclasts ○Chiba-Ohkuma R, Karakida T, Yamakoshi Y (Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
<b>1-PM12</b>	The role of the deubiquitylating enzyme, OTUB1 in head and neck squamous cell carcinoma progression ○Jin S <sup>1</sup> , Tsunematsu T <sup>2</sup> , Horiguchi T <sup>1</sup> , Ishimaru N <sup>2</sup> , Kudo Y <sup>1</sup> (Dept Oral Biosci, Tokushima Univ Grad Sch of Biomed Sci, <sup>2</sup> Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch of Biomed Sci)
<b>1-PM13</b>	Macrophages promote bone regeneration through the activation of LepR (+) cells ○He Z <sup>1</sup> , Mizoguchi T <sup>2</sup> , Hiraga T <sup>3</sup> , Nakamichi Y <sup>1</sup> , Yamashita T <sup>1</sup> , Koide M <sup>1</sup> , Udagawa N <sup>1</sup> , Kobayashi Y <sup>1</sup> (Inst for Oral Sci, Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup> Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup> Dept Oral Anat, Fac Dent, Matsumoto Dent Univ)
<b>1-PM14</b>	Inhibition of LC3 suppresses osteoclast maturation and bone destruction in periodontal disease models ○Hiura F <sup>1</sup> , Kawabata Y <sup>2</sup> , Mizokami A <sup>3</sup> , Jimi E <sup>1,3</sup> (Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Sect Aging Sci Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>1-PM15</b>	Effect of short-chain fatty acids, metabolites of oral bacteria, on RANKL-induced osteoclast differentiation ○Asayama T, Tsuda H (Dept Oral Maxillofac Surg, Div Oral Surg, Nihon Univ Sch Dent)
<b>1-PM16</b>	Effect of Er:YAG laser and diode laser irradiation in human pulp stem cells ○Yoshida R <sup>1</sup> , Yamakawa S <sup>1</sup> , Kobayashi K <sup>2</sup> , Yamamoto R <sup>3</sup> , Ohkuma R <sup>3</sup> , Karakida T <sup>3</sup> , Yamazaki Y <sup>1</sup> , Yamakoshi Y <sup>3</sup> , Hosoya N <sup>1</sup> (Dept Endodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup> Dept Dent Hygiene, Tsurumi Junior Coll, <sup>3</sup> Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
<b>1-PM17</b>	Application of near-infrared photo therapy on medicine-related osteonecrosis of the jaw ○Shimohira T, Ohsugi Y, Katagiri S, Shiba T, Komatsu K, Liu A, Lin P, Toyoshima K, Aoki A (Dept Periodontol, Tokyo Med Dent Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>1-PM18</b>	Identification of mineralization-inductive substances in in decalcified bones ○Saito H <sup>1,2</sup> , Yamamoto R <sup>2</sup> , Chiba-Ohkuma R <sup>2</sup> , Karakida T <sup>2</sup> , Shira M <sup>1</sup> , Yamakoshi Y <sup>2</sup> (Dept Removable Prosthodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup> Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
<b>1-PM19</b>	The difference of changes of salivary secretion induced by stimulation with pilocarpine and bethanechol ○Sakazume H <sup>1,2</sup> , Yamaguchi H <sup>2</sup> , Sato R <sup>3</sup> , Itagaki T <sup>2</sup> , Yoshida O <sup>4</sup> , Nezu A <sup>5</sup> , Tanimura A <sup>5</sup> , Tanaka A <sup>1</sup> , Morita T <sup>2</sup> (Dept. Oral Maxillofac Surg, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>2</sup> Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>3</sup> Dept. Dent Hygiene, Nippon Dent Univ Coll at Niigata, <sup>4</sup> Dept Pediatr Dent, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>5</sup> Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent)
<b>1-PM20</b>	The role of Id4 in the salivary gland and its involvement in pathology ○Kimura S <sup>1,2</sup> , Hayashi Y <sup>1,3</sup> , Saeki A <sup>1</sup> , Yasukochi A <sup>2</sup> , Nakamura S <sup>2</sup> , Jimi E <sup>1</sup> , Kawakubo-Yasukochi T <sup>1</sup> (OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>2</sup> Sect Oral Maxillofac Oncol, Fac Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>3</sup> Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll)



<b>1-PM21</b>	Analysis of novel regulatory mechanism of nuclear factor- $\kappa$ B ○Aoki T <sup>1,2</sup> , Matsuda M <sup>2</sup> , Jimi E <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Sect Periodontol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>1-PM22</b>	Oxidative stress increased expression of CXCL15 mRNA via a MEK/ERK-dependent manner in fibroblast-like synoviocytes derived from mouse temporomandibular joint ○Asanuma K <sup>1</sup> , Yokota S <sup>2</sup> , Chosa N <sup>2</sup> , Satoh K <sup>1</sup> , Ishisaki A <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Div Orthodont, Iwate Med Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Biochem, Iwate Med Univ Sch Dent)
<b>1-PM23</b>	Characterization of fluorescent porcine dental pulp cell on bioactive glass cement ○Nakamichi T <sup>1</sup> , Yamamoto R <sup>2</sup> , Ohkuma R <sup>2</sup> , Karakida T <sup>2</sup> , Yamakoshi Y <sup>2</sup> , Hosoya N <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Endodont, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup> Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
<b>1-PM24</b>	The role of Fat1 in maxillofacial development ○Shao W, Mouri Y, Kudo Y (Dept Oral Biosci, Tokushima Univ, Grad Sch of Biomed Sci)
<b>1-PM25</b>	Effect of cellular senescence on osteoblast differentiation ○Matsui R <sup>1</sup> , Uehara S <sup>2</sup> , Udagawa N <sup>3</sup> , Kobayashi Y <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Matsumoto Dent Univ Grad Sch of Oral Med, <sup>2</sup> Matsumoto Dent Univ Oral Biochem, <sup>3</sup> Matsumoto Dent Univ Oral Med)
<b>1-PM26</b>	Extracellular pH regulates bone turnover regulation by osteocytes ○Amada K <sup>1</sup> , Miyamoto Y <sup>2</sup> , Kamijo R <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral and Maxillofac Surg, Showa Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Biochem, Showa Univ Sch Dent)
<b>1-PM27</b>	Deubiquitinase-mediated regulation of osteoclast differentiation ○Chiba M <sup>1</sup> , Hoshikawa S <sup>1</sup> , Saito K <sup>1</sup> , Chiba Y <sup>2</sup> , Yamada A <sup>1</sup> , Fukumoto S <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Div Ped Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)

### Physiology (Morita Award)

<b>1-PM28</b>	Inhibition of the bed nucleus of the stria terminalis enhances disgust and anxiety in conditioned taste aversion ○Kikuchi E <sup>1</sup> , Inui T <sup>1</sup> , Su S <sup>1</sup> , Funahashi M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Func Sci, Grad Sch Dent Med Hokkaido Univ, <sup>2</sup> Dept Ortho, Div Den Med Grad Sch Dent Hokkaido Univ)
<b>1-PM29</b>	Analysis of emetine-induced conditioned nausea by measurements of gaping reactions ○Su S, Kikuchi E, Yoshizawa T, Inui T, Funahashi M (Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
<b>1-PM30</b>	Mechanosensitivity of mesencephalic trigeminal nucleus neurons ○Kwon S <sup>1,2</sup> , Ouchi T <sup>2</sup> , Kimura M <sup>2</sup> , Nakamura S <sup>3</sup> , Inoue T <sup>3</sup> , Shibukawa Y <sup>2</sup> , Ichinohe T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup> Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent)
<b>1-PM31</b>	Spontaneous repetitive jaw movements in relation to cyclic states of cortical activities in urethane anesthetized guinea pigs ○Katsura-Fuchihata S <sup>1</sup> , Katagiri A <sup>1</sup> , Toyoda H <sup>1</sup> , Masuda Y <sup>2</sup> , Kato T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Oral Maxillofac Biol, Grad Sch Oral Med Matsumoto Dent Univ)
<b>1-PM32</b>	Piezo1-TRPV1 crosstalk in rat odontoblasts ○Kurashima R <sup>1</sup> , Kimura M <sup>1</sup> , Ouchi T <sup>1</sup> , Kuroda H <sup>2</sup> , Shibukawa Y <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Dent Anesthesiol, Kanagawa Dent Univ)
<b>1-PM33</b>	Functional expression of Piezo1 channel in human Merkel cells ○Kaneko R <sup>1,2</sup> , Ouchi T <sup>2</sup> , Kimura M <sup>2</sup> , Shibukawa Y <sup>2</sup> , Ichinohe T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Physiol, Tokyo Dent Coll)
<b>1-PM34</b>	Peripheral neuronal markers and ion channel expression in cells of trigeminal mesencephalic nucleus ○Tagami K <sup>1</sup> , Ouchi T <sup>2</sup> , Kimura M <sup>2</sup> , Kurashima Y <sup>2</sup> , Ishii T <sup>1</sup> , Nakamura S <sup>3</sup> , Inoue T <sup>3</sup> , Shibukawa Y <sup>2</sup> , Nishii Y <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Orthodont, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup> Dept Oral Physiol, Sch Dent, Showa Univ)
<b>1-PM35</b>	Differential synaptic function of projection from the insular and medial prefrontal cortices to the nucleus accumbens core revealed by optogenetic ○Hirose K <sup>1,2</sup> , Nakaya Y <sup>2</sup> , Kitano K <sup>2</sup> , Yamamoto K <sup>2</sup> , Shirakawa T <sup>1</sup> , Kobayashi M <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pediatr Dent Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Pharmacol Nihon Univ Sch Dent)
<b>1-PM36</b>	Osteoblasts treated with AMPK activator on titanium promote osteogenesis via autophagy ○Egashira K <sup>1,2</sup> , Kajiya H <sup>1,2</sup> , Kono Y <sup>1</sup> , Tsutsumi T <sup>4</sup> , Ohno J <sup>1</sup> , Kakura K <sup>2</sup> , Kido H <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Oral Med Res Cent, <sup>2</sup> Dept Oral Rehabilit, Oral Implantol, <sup>3</sup> Physiological Sci and Molecular Biol, Cellular Physiol, <sup>4</sup> General Dent The Cent for Visiting Dent Service, Fukuoka Dent Coll)
<b>1-PM37</b>	Mechanosensory Piezo1 induced multi-differentiation in human periodontal ligament stem cells ○Kono Y <sup>1,2</sup> , Kajiya H <sup>1,3</sup> , Egashira K <sup>1</sup> , Goto K <sup>1</sup> , Ohno J <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Oral Grow & Develop, Orthodon, Fukuoka Dent Coll, <sup>3</sup> Dept Physiol Scein & Mol Biol Cell Physiol, Fukuoka Dent Coll)
<b>1-PM38</b>	Analgesic effect of Linalool odor on Oral ulcerative mucositis pain ○Iida M <sup>1,2</sup> , Hitomi S <sup>2</sup> , Iwata K <sup>2</sup> , Shinoda M <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dysphagia Rehabil, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>1-PM39</b>	Ligands-dependent mineralization through G <sub>i</sub> protein-coupled receptor-ligand axes in odontoblasts ○Saito N <sup>1</sup> , Ouchi T <sup>2</sup> , Kimura M <sup>3</sup> , Kurashima R <sup>3</sup> , Ichinohe T <sup>2</sup> , Shibukawa Y <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Anesthesiol and Pain Relief Cent, The Univ Tokyo Hosp, <sup>2</sup> Dept Dent Anesthesiol, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup> Dept Physiol, Tokyo Dent Coll)
<b>1-PM40</b>	<i>Wasabi sulfanyl</i> derivative hexaraphane promotes mineralization efficiency of human odontoblasts ○Furusawa Y <sup>1,2</sup> , Kimura M <sup>2</sup> , Ouchi T <sup>2</sup> , Nakajima K <sup>1,2</sup> , Sugita M <sup>3</sup> , Okunishi I <sup>4</sup> , Shibukawa Y <sup>2</sup> , Furusawa M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Tokyo Dent Coll Dept. Endod, <sup>2</sup> Tokyo Dent Coll Dept Physiol, <sup>3</sup> Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci, Dept Physiol Oral Physiol, <sup>4</sup> Kinjirushi Co, Ltd)
<b>1-PM41</b>	Mesenchymal stem cells-relating proteoglycans play important roles in dentin regeneration ○Nakajima K <sup>1,2</sup> , Ouchi T <sup>2</sup> , Kimura M <sup>2</sup> , Furusawa Y <sup>1,2</sup> , Shibukawa Y <sup>2</sup> , Furusawa M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Tokyo Dent Coll Dept Endod, <sup>2</sup> Tokyo Dent Coll Dept Physiol)

<b>1-PM42</b>	<p>Functional expression of CGRP receptor and dynamics of intracellular cAMP levels by the receptor activation in vascular endothelial cells</p> <p>○Iwasaki A<sup>1</sup>, Ouchi T<sup>2</sup>, Nishiyama A<sup>1</sup>, Kimura M<sup>2</sup>, Kuroda H<sup>3</sup>, Shibukawa Y<sup>2</sup>, Katakura A<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Dept Oral Pathobiol Sci Surg, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup>Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup>Dept Dent Anesthesiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)</p>
---------------	---

#### International Student (Morita Award)

<b>1-PMI1</b>	<p>Tissue and stage-specific role of Gata3 in embryonic craniofacial development</p> <p>○Saha M, Kurosaka H, Inubushi T, Yamashiro T (Dept Orthodontics, Grad Sch Dent, Osaka Univ)</p>
<b>1-PMI2</b>	<p>p130cas plays a crucial role in ER-Golgi network formation for cell differentiation of granular convoluted tubules in mouse submandibular glands</p> <p>○Li AN<sup>1</sup>, Gao J<sup>1</sup>, Fujii S<sup>2,3</sup>, Kiyoshima T<sup>2</sup>, Jimi E<sup>1,4</sup> (<sup>1</sup>Sect Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>DDR Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>4</sup>OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)</p>
<b>1-PMI3</b>	<p>Testosterone signaling enhances autophagic activity in microglia</p> <p>○Du H<sup>1</sup>, Mizokami A<sup>2</sup>, Kanematsu T<sup>1</sup>, Sano T<sup>1</sup>, Yamawaki Y<sup>3</sup> (<sup>1</sup>Dept Cell Biol Aging Sci, &amp; Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>OBT Res Cent, Fac Dent, Kyushu Univ, <sup>3</sup>Lab Adv Pharmacol, Daiichi Univ Pharm)</p>

(September 18, 8 : 30-19 : 40)

<b>2-PG1</b>	<p>The construction of model formula for computer simulation of student training (local anesthesia)</p> <p>○Ara T<sup>1</sup>, Sogawa N<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Dept Pharmacol, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup>Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ)</p>
<b>2-PG2</b>	<p>Regulation of phenotypic changes in epithelial keratinocytes by the transcription factor SOX4</p> <p>○Nagaoka Y, Takeishi Y, Hatta M (Div Cell Mol Regul, Fukuoka Dent Coll)</p>
<b>2-PG3</b>	<p>Investigation for antioxidant properties of lidocaine hydrochloride hydrate</p> <p>○Kuroda H<sup>1</sup>, Yoshida A<sup>2</sup>, Yoshino F<sup>3</sup> (<sup>1</sup>Dept Dent Anesthesiol, Kanagawa Dent Univ, <sup>2</sup>Dept Dent Educ, Kanagawa Dent Univ, <sup>3</sup>Dept Pharmacol, Kanagawa Dent Univ)</p>
<b>2-PG4</b>	<p>Efficacy of enzyme replacement therapy from prenatal period on the jaw bone of Akp2<sup>-/-</sup> mice</p> <p>○Ishizuka S, Takahashi A, Ito S, Tokuyama A, Kasahara M (Dept Pharmacol Tokyo Dent Coll)</p>
<b>2-PG5</b>	<p>Prominent UVC protective effect of vanillin and its relation to dectin-2 expression</p> <p>○Sakagami H<sup>1</sup>, Abe M<sup>2</sup>, Inomata M<sup>2</sup>, Uota S<sup>1,3</sup>, Amano S<sup>1</sup>, Tanuma S<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Meikai Univ Res Instit Odont, <sup>2</sup>Dept Oral Biol Tissue Eng Div Microbiol Meikai Univ Sch Dent, <sup>3</sup>Nippon Sunshow Med Manu Co Ltd)</p> <p>(withdrawn)</p>
<b>2-PG6</b>	
<b>2-PG7</b>	<p>Analysis of the tongue mucosa in COVID-19 infection</p> <p>○Sakaguchi W<sup>1</sup>, Saruta J<sup>2</sup>, Yamamoto Y<sup>3</sup>, Hamada N<sup>4</sup>, Tsukinoki K<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Dept Environmental Pathol, Kanagawa Dent Univ, <sup>2</sup>Dept Education Planning, Kanagawa Dent Univ, <sup>3</sup>Dept Junior Coll, Kanagawa Dent Univ Sch Dent Hygiene, <sup>4</sup>Dept Microbiol, Kanagawa Dent Univ)</p>
<b>2-PG8</b>	<p>Creation and evaluation of a novel mouse model of periodontal disease by induction of <i>Fusobacterium nucleatum</i></p> <p>○Toda M<sup>1</sup>, Kobayashi R<sup>2</sup>, Senpuku H<sup>2</sup>, Okada H<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Nihon Univ Grad Sch Dent at Matsudo, <sup>2</sup>Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>3</sup>Dept Histol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)</p>
<b>2-PG9</b>	<p>Regulatory mechanism of cytokine productions from anti CD3 antibody-stimulated mouse spleen cells by caffeic acid phenethyl ester (CAPE)</p> <p>○Megumi A<sup>1</sup>, Kamiya M<sup>2</sup>, Ikeno K<sup>3</sup>, Ueno K<sup>1</sup>, Umemura N<sup>1</sup>, Eiji T<sup>1</sup>, Kwaki H<sup>1</sup>, Nakamura G<sup>3</sup>, Kondoh N<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Business Admin, Asahi Univ Sch Manage, <sup>3</sup>Kabusikigaishya Akitayahonten)</p>
<b>2-PG10</b>	<p>Analysis of immune responses to <i>Candida albicans</i> in a murine oral infection model</p> <p>○Toyonaga K<sup>1</sup>, Nagao J<sup>1,2</sup>, Mizukami K<sup>3</sup>, Tasaki S<sup>1</sup>, Kishikawa S<sup>1</sup>, Kaji E<sup>1</sup>, Negoro K<sup>1</sup>, Tanaka Y<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll, <sup>3</sup>Research Student, Fukuoka Dent Coll)</p>
<b>2-PG11</b>	<p>Investigation of immunological systems regulating the pathogenesis of periodontitis</p> <p>○Nagao J<sup>1,2</sup>, Kishikawa S<sup>1</sup>, Toyonaga K<sup>1</sup>, Kaji E<sup>1</sup>, Negoro-Yasumatsu K<sup>1</sup>, Tasaki S<sup>1</sup>, Tanaka Y<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll)</p>
<b>2-PG12</b>	<p>Effect of midazolam on the interleukin-2 production in stimulated mouse splenocytes</p> <p>○Kamiya M<sup>1</sup>, Takayama E<sup>2</sup>, Kawaki H<sup>2</sup>, Umemura N<sup>2</sup>, Ueno K<sup>2</sup>, Takahashi M<sup>3</sup>, Chihara E<sup>4</sup>, Muramatsu Y<sup>3</sup>, Kondoh N<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Chem Lab, Asahi Univ Sch Business Admin, <sup>2</sup>Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent, <sup>4</sup>Dept General Med, Asahi Univ Sch Health Sci)</p>
<b>2-PG13</b>	<p>Elucidation of sublingual immune cell cluster constituent cells by specific photolabeling</p> <p>○Kusumoto Y<sup>1</sup>, Kataoka K<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Labo Immunol, Osaka Ohtani Univ Fac Pharm, <sup>2</sup>Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, Dept Oral Health Sci Soc Welfare)</p>
<b>2-PG14</b>	<p>The expression of novel immune checkpoint molecule ILDR2</p> <p>○Zhang C, Okuhara S, Nagai S, Azuma M (Dept Mol Immunol TMDU Grad Sch Med Dent)</p>
<b>2-PG15</b>	<p>Expression analysis of the gene encoding the Mfa1 fimbriae component protein of <i>Porphyromonas gingivalis</i></p> <p>○Fujita M, Miyakawa H, Nagano K (Div Microbiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch of Dent)</p>
<b>2-PG16</b>	<p><i>Porphyromonas gingivalis</i> gingipains-mediated degradation of PAI-1 leads to delayed wound healing responses in human endothelial cells</p> <p>○Tada H<sup>1</sup>, Nishioka T<sup>2</sup>, Matsushita K<sup>3</sup>, Sugawara S<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup>Div Liaison, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Oral Dis Res, NCGG)</p>

<b>2-PG17</b>	<i>Streptococcus gordonii</i> DL1 escapes killing by phagocytes via resistance to lysozyme ○Tashiro Y <sup>1</sup> , Saiki K <sup>1</sup> , Yamanaka Y <sup>1</sup> , Ishikawa Y <sup>2</sup> , Hayashida N <sup>1</sup> , Uchikawa M <sup>1</sup> , Takahashi Y <sup>1</sup> (Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, <sup>2</sup> Gen Dent, Nippon Dent Univ Hosp)
<b>2-PG18</b>	Neuroimmunological analysis using the mouse model of periodontal disease ○Kishikawa S <sup>1</sup> , Nagao J <sup>1,2</sup> , Toyonaga K <sup>1</sup> , Kaji E <sup>1</sup> , Negoro K <sup>1</sup> , Tasaki S <sup>1</sup> , Tanaka Y <sup>1,2</sup> (Div infect Biol, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup> Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll)
<b>2-PG19</b>	Development of an oral care system using a mouthguard to prevent aspiration pneumonia ○Saito M <sup>1</sup> , Iwata Y <sup>2</sup> , Shinozaki-Kuwahara N <sup>1</sup> , Hashizume-Takizawa T <sup>1</sup> , Kobayashi R <sup>1</sup> , Senpuku H <sup>1</sup> (Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>2</sup> Dept Crown Bridge Prosthodont, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
<b>2-PG20</b>	The IL-1 $\beta$ -producing activity of the synthetic candidalysin peptide is affected by solubility ○Mori T, Kataoka H, Tanabe G, Into T (Dept Oral Microbiol, Div Oral Infect Health Sci, Asahi Univ Sch Dent)
<b>2-PG21</b>	The role of phospholipase on <i>Porphyromonas gingivalis</i> gingivitis-induced COX-2 expression and PGE2 production ○Nakayama M <sup>1,2</sup> , Naito M <sup>3</sup> , Nakayama K <sup>3</sup> , Ohara N <sup>1,2</sup> (Dept Oral Microbiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup> ARCOCS, Okayama Univ Dent Sch, <sup>3</sup> Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
<b>2-PG22</b>	Analysis of the intracellular recognition of LPS derived from periodontopathic bacteria ○Kataoka H, Mori T, Tanabe G, Into T (Dept Oral Microbiol, Div Oral Infect Health Sci, Asahi Univ Sch Dent)
<b>2-PG23</b>	Antimicrobial peptide LL-37 binds to oral bacterial DNA to form degradation-resistant complexes ○Tanabe G, Kataoka H, Mori T, Into T (Dept Oral Microbiol, Div Oral Infect Health Sci, Asahi Univ Sch Dent)
<b>2-PG24</b>	The inhibitory properties of Ti-Au and Ti-Cu alloys on biofilm formation ○Takahashi M <sup>1</sup> , Tada H <sup>2</sup> , Takada Y <sup>1</sup> (Div Dent Biomater, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>2-PG25</b>	The inhibitory properties of Ti-Pt and Ti-Nb alloys on biofilm formation ○Takada Y <sup>1</sup> , Tada H <sup>2</sup> , Takahashi M <sup>1</sup> (Div Dent Biomater, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>2-PG26</b>	Structural and antigenic characterization of novel genotype of Mfa1 fimbriae in <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Fujimoto M <sup>1</sup> , Naiki Y <sup>2</sup> , Sakae K <sup>2</sup> , Miwa N <sup>1</sup> , Nagano K <sup>3</sup> , Nawa H <sup>1</sup> , Hasegawa Y <sup>2</sup> (Div Pediatr Dent, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Microbiol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Div Microbiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
<b>2-PG27</b>	Hemagglutinating properties of a <i>Streptococcus gordonii</i> strain expressing Hsa adhesin homolog with low binding site similarity to that of strain DL1 ○Ishikawa Y <sup>1</sup> , Tashiro Y <sup>2</sup> , Yamanaka Y <sup>2</sup> , Saiki K <sup>2</sup> , Hayashida N <sup>2</sup> , Uchikawa M <sup>2</sup> , Takahashi Y <sup>2</sup> (Gen Dent, Nippon Dent Univ Hosp, <sup>2</sup> Dept Microbiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
<b>2-PG28</b>	Antifungal activity of hinokitiol against <i>Candida albicans</i> with focus on germ tube formation and reactive oxygen species production ○Fukui K <sup>1</sup> , Nakamura K <sup>1</sup> , Hara H <sup>1</sup> , Ninomiya K <sup>1,2,3</sup> (Dept Pharmacol, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>2</sup> Comprehensive Dent, Niigata Hosp, Nippon Dent Univ, <sup>3</sup> Oral Maxillofac Surg, Niigata Hosp, Nippon Dent Univ)
<b>2-PG29</b>	Interspecies chemical communication between oral bacteria enhances the generation of volatile methyl mercaptan ○Hara T <sup>1,2</sup> , Kuboniwa M <sup>3</sup> , Sakanaka A <sup>3</sup> , Amano A <sup>3</sup> (Adv Cosmet Sci, Osaka Univ Grad Sch Med, <sup>2</sup> Fundamental Res Inst, Mandom corp, <sup>3</sup> Dept Prevent Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>2-PG30</b>	Antimicrobial effect of S-PRG filler ionized water on <i>Streptococcus pneumoniae</i> ○Tamura M <sup>1,2</sup> , Imai K <sup>1,2</sup> (Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Immunol Pathobiol Res Cent, Nihon Univ Sch Dent)
<b>2-PG31</b>	Effect of activation of human periodontal ligament fibroblasts via the Dectin-1/Syk pathway ○Inomata M <sup>1</sup> , Abe M <sup>1</sup> , Amano S <sup>2</sup> , Sakagami H <sup>2</sup> (Dept Oral Biol Tissue Eng Div Microbiol Meikai Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Meikai Univ Res Inst Odont)
<b>2-PG32</b>	Biofilm formation by gliding motility bacteria ○Sato K <sup>1</sup> , Kondo Y <sup>2</sup> , Naito M <sup>3</sup> , Kadowaki T <sup>1</sup> (Dept Front Oral Sci, Nagasaki Univ Grad Sch, <sup>2</sup> Dept Pediatr Dent, Nagasaki Univ Grad Sch, <sup>3</sup> Dept Microbiol Oral Infect, Nagasaki Univ Grad Sch)
<b>2-PG33</b>	Pathogenicity of gliding bacteria ○Kondo Y <sup>1</sup> , Naito M <sup>3</sup> , Kadowaki T <sup>2</sup> , Sato K <sup>2</sup> (Dept Pediatr Dent, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ, <sup>2</sup> Dept Front Oral Sci, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ, <sup>3</sup> Dept Microbiol Oral Infect, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ)

(September 18, 8 : 30-19 : 40)

#### Histology & Embryology (Morita Award)

<b>2-PM1</b>	Differentiation of Mash1-expressing precursor cells in taste buds ○Matsuyama K, Kataoka S, Toyono T, Seta Y (Div Anat, Kyushu Dent Univ)
<b>2-PM2</b>	Osteogenic ability of Gli1-positive cells in periodontal ligament after tooth extraction ○Fujii S <sup>1</sup> , Takebe H <sup>2</sup> , Mizoguchi T <sup>3</sup> , Shimo T <sup>1</sup> , Hosoya A <sup>2</sup> (Div Reconstructive Surg Oral Maxillofac Reg, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>2</sup> Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>3</sup> Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll)
<b>2-PM3</b>	Comparison of Advanced Glycation End products (AGEs) accumulation in crown dentin ○Asami R, Hayashida C, Sato T, Sakiyama K (Div Anat, Dept Human Dev Foster, Meikai Univ Sch Dent)
<b>2-PM4</b>	Analysis of differentiation mechanism of Gli1-positive cells periodontal ligament cells during experimental tooth movement ○Seki Y <sup>1,2</sup> , Takebe H <sup>1</sup> , Mizoguchi T <sup>3</sup> , Irie K <sup>4</sup> , Hosoya A <sup>1</sup> (Dept Histol, Health Sci Univ Hokkaido, <sup>2</sup> Dept Orthodont, Health Sci Univ Hokkaido, <sup>3</sup> Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll, <sup>4</sup> Div Anat, Health Sci Univ Hokkaido)

<b>2-PM5</b>	Analysis of TGF- $\beta$ /MAPK signaling in osteoblast differentiation ○Wang TH <sup>1</sup> , Watanabe K <sup>2</sup> , Hamada N <sup>3</sup> , Tani-Ishii N <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Endodont, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Lib Arts Educ, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Oral Microbiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
<b>2-PM6</b>	GPI-anchored protein Lypd1 is specifically expressed on preodontoblast and regulates odontoblast differentiation ○Fu Y <sup>1</sup> , Miyazaki K <sup>1</sup> , Yoshizaki K <sup>1</sup> , Chiba Y <sup>2</sup> , Kawahara J <sup>1</sup> , Yuta Y <sup>1</sup> , Tian T <sup>1</sup> , Mizuta K <sup>1</sup> , Fukumoto S <sup>2</sup> , Takahashi I <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>2-PM7</b>	Differentiation ability of Gli1 + cells during dentin regeneration ○Takahama A <sup>1,2</sup> , Seki Y <sup>2,3</sup> , Sato K <sup>2</sup> , Takebe H <sup>2</sup> , Mizoguchi T <sup>1</sup> , Yawaka Y <sup>1</sup> , Hosoya A <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dent Child Disabled Person, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, <sup>2</sup> Div Histol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>3</sup> Div Orthod Dentofac Orthop, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>4</sup> Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll)
<b>2-PM8</b>	The effects of intentionally perforating the floor of the pulp chamber on dynamics of pulp quiescent stem cells ○Sano H <sup>1,2</sup> , Nakamura-Oshima K <sup>3</sup> , Okada Y <sup>2</sup> , Sato T <sup>1</sup> , Oshima H <sup>4</sup> ( <sup>1</sup> Div Clin Chem, Niigata Univ Grad Sch Health Sci, <sup>2</sup> Dept Pathol, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>3</sup> Div Pediatr Dent, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>4</sup> Div Anat Cell Biol Hard Tissue, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>2-PM9</b>	Axonal guidance of hypoglossal nerve via Netrin and Semaphorin signaling pathways ○Hani T <sup>1</sup> , Taya Y <sup>1</sup> , Sasaki Y <sup>2</sup> , Kawamoto S <sup>1</sup> , Kudo T <sup>1</sup> , Sato K <sup>1</sup> , Soeno Y <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, <sup>2</sup> Dept Dent, Kanagawa Child Med Cent, Yokohama)
<b>2-PM10</b>	Generation of artificial salivary glands using decellularization method ○Ohnuma S, Mishima K, Yasuhara R, Tanaka J, Yukimori A (Dept Oral Pathol, Showa Univ Grad Sch Dent)
<b>2-PM11</b>	Heparan sulfate regulates Wnt signaling during the craniofacial morphogenesis ○Nakanishi Y, Inubushi T, Oka A, Kurosaka H, Yamashiro T (Osaka Univ Grad Sch Dent Dept Orthodont)
<b>2-PM12</b>	TGF- $\beta$ signal regulates tooth root development through controlling EMT of HERS in coordination with Semaphorin signal ○Azumane M <sup>1</sup> , Ikezaki S <sup>2</sup> , Kumakami M <sup>2</sup> , Arai H <sup>3</sup> , Yamada H <sup>1</sup> , Otsu K <sup>2</sup> , Harada H <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Div Oral Maxillofac Reg, Iwate Med Univ, Sch Dent, <sup>2</sup> Div Dev Bio and Reg Med, Dept Anat, Iwate Med Univ, <sup>3</sup> Div Pediatr Dent Spec Care Dent, Iwate Med Univ, Sch Dent)
<b>2-PM13</b>	Screening of proteins binding to tooth specific transcription factor AmeloD by yeast two-hybrid system ○Oka S <sup>1</sup> , Sato H <sup>1</sup> , Chiba Y <sup>1</sup> , Yoshizaki K <sup>3</sup> , Fukumoto S <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Sect Pediatr Dent, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Div Pediatr Dent, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> Sect Orthod Dentofac Orthop, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>2-PM14</b>	Mechanistic analysis of dysregulated palatal wound healing via aryl hydrocarbon receptor by smoking ○Hamada Y, Izawa T, Yoshikawa Y, Kamioka H (Dept Orthodont, Grad Sch Med, Dent and Pharma Sci, Okayama Univ)
<b>2-PM15</b>	Characteristic arrangement of fibroblasts along the intercalated duct of rat major salivary glands ○Onozawa G <sup>1,2</sup> , Nagasaka A <sup>1</sup> , Bando Y <sup>1</sup> , Amano O <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Histol, Meikai Univ, <sup>2</sup> Div Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ)
<b>2-PM16</b>	Slc26a2 transporter is required for odontoblast differentiation in upper molars ○Yoshida Y, Inubushi T, Oka A, Yamashiro T (Osaka Univ Grad Sch Dent Dept Orthodont)
<b>2-PM17</b>	The development of a human bone marrow adipose tissue-like cellular construct using clumps of MSCs/ECM complexes ○Yoshino M <sup>1</sup> , Kajiji M <sup>1,2</sup> , Yoshii H <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Periodontal Med, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci, <sup>2</sup> Dept Innovation & Precision Dent, Hiroshima Univ Hosp Dent)
<b>2-PM18</b>	The impact of hypoxia on maturation stage ameloblasts ○Arai H <sup>1</sup> , Inaba A <sup>1</sup> , Ikezaki S <sup>2</sup> , Kumakami M <sup>2</sup> , Azumane M <sup>3</sup> , Morikawa K <sup>1</sup> , Harada H <sup>2</sup> , Otsu K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Div Pediatr Dent Spec Care Dent, Iwate Med Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Dev Bio and Reg Med, Dept Anat, Iwate Med Univ, <sup>3</sup> Div Oral Maxillofac Surg, Iwate Med Univ Sch Dent)
<b>2-PM19</b>	Acetylcholine (ACh), a parasympathetic neurotransmitter, orchestrates the induction and the positioning of myoepithelial cells in developing salivary glands ○Shindo Y <sup>1</sup> , Wakamori M <sup>2</sup> , Nakai J <sup>3</sup> , Nakamura T <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Tohoku Univ Hosp, <sup>2</sup> Div Mol Pharmacol Cell Biophys, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> Div Oral Physiol, Tohoku Univ Grad Sch Dent)

#### Microbiology (Morita Award)

<b>2-PM20</b>	Genotypic analysis of the downstream genes of <i>mfa1</i> in <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Sakae K <sup>1</sup> , Nagano K <sup>2</sup> , Fujimoto M <sup>3</sup> , Hasegawa Y <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Microbiol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Microbiol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>3</sup> Div Pediatr Dent, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent)
<b>2-PM21</b>	Characterization of a mutant lacking a phage-derived gene region from <i>Treponema denticola</i> ATCC 35405 ○Yokogawa T <sup>1</sup> , Fujita M <sup>2</sup> , Miyakawa H <sup>2</sup> , Nagano K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent Div Orthod Dentofac Orthop, <sup>2</sup> Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent Div Microbiol)
<b>2-PM22</b>	Mechanism of exacerbation of pneumonia by oral commensals in HOMA (human oral microbiota-associated) mouse model ○Hayashi M <sup>1,2</sup> , Kuwata H <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Microbiol Immunol, Sch Dent, Showa Univ, <sup>2</sup> Div Anesthesiol Sch Dent, Showa Univ)
<b>2-PM23</b>	Development of near-infrared photo-antimicrobial targeting therapy for <i>Porphyromonas gingivalis</i> ○Maruyama H <sup>1</sup> , Sakai K <sup>2</sup> , Koma Y <sup>1</sup> , Dong J <sup>1,3</sup> , Liu K <sup>1</sup> , Watanabe J <sup>1</sup> , Sakaguchi K <sup>2</sup> , Hibi H <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Maxillofac Surg, Nagoya Univ Grad Sch Med, <sup>2</sup> Dept Oral Maxillofac Surg, Nagoya Univ Hosp, <sup>3</sup> Lung Bioengineering and Regeneration, Dept Experimental Med Sci, Fac Med, Lund Univ)
<b>2-PM24</b>	Cigarette smoke extract decreases the barrier function of gingival epithelial cells ○Yamaga S, Takeuchi H, Amano A (Osaka Univ Dent Div Prev)
<b>2-PM25</b>	Exploration of antigens from the pathogenic fungus <i>Candida albicans</i> that regulate the pathogenesis of oral candidiasis ○Kaji E <sup>1,2</sup> , Toyonaga K <sup>1</sup> , Tasaki S <sup>1</sup> , Nagao J <sup>1,3</sup> , Kisikawa S <sup>1</sup> , Tanaka Y <sup>1,3</sup> ( <sup>1</sup> Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup> Sect Anesthesiol, Fukuoka Dent Coll, <sup>3</sup> Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll)



<b>2-PM26</b>	The effects of cell death induced by Deferriferrichrysin on oral squamous cell carcinoma cells ○Tani M <sup>1</sup> , Iseki T <sup>1</sup> , Okinaga T <sup>2</sup> , Mashimo C <sup>2</sup> , Nambu T <sup>2</sup> , Maruyama Y <sup>2</sup> (1 <sup>st</sup> Dept Oral Maxillofac Surg, Osaka Dent Univ Grad Sch Dent, 2 <sup>nd</sup> Dept Bacteriol, Osaka Dent Univ)
<b>2-PM27</b>	Age-related characteristics in the tongue microbiota in community-dwelling individuals ○Asakawa M <sup>1</sup> , Takeshita T <sup>1,2</sup> , Kageyama S <sup>1</sup> , Yamashita Y <sup>1</sup> (1 <sup>st</sup> Sect Prevent Dent Public Health, Kyushu Univ Grad Sch Dent, 2 <sup>nd</sup> OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>2-PM28</b>	Breastfeeding prevents early maturation of oral microbiota in infants ○Kageyama S, Takeshita T, Ma J, Asakawa M, Yamashita Y (Sect Prevent Dent Public Health, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>2-PM29</b>	Growth promoting factors of <i>Scardovia wiggsiae</i> ○Kameda M <sup>1,2</sup> , Abiko Y <sup>1</sup> , Washio J <sup>1</sup> , Sato S <sup>1</sup> , Takahashi N <sup>1</sup> (1 <sup>st</sup> Oral Ecol Biochem, Tohoku Univ Grad Sch Dent, 2 <sup>nd</sup> Div Orthod Dentofac Orthop, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>2-PM30</b>	Susceptibility of disinfectants against cephalosporin-resistant Gram-negative bacteria isolated from oral cavity ○Haruta A <sup>1</sup> , Matsuo M <sup>2,3</sup> , Yoshikawa M <sup>1</sup> , Takeuchi M <sup>1</sup> , Le MN <sup>2,3</sup> , Tsuga K <sup>1</sup> , Komatsuzawa H <sup>2,3</sup> (1 <sup>st</sup> Dept Adv Prosthodont, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci, 2 <sup>nd</sup> Dept Bacteriol, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci, 3 <sup>rd</sup> Project Res Cent, Nosocomial Infect Dis, Hiroshima Univ)
<b>2-PM31</b>	Resistance mechanism of cariogenic bacteria <i>Streptococcus mutans</i> to nukacin produced by <i>Staphylococcus epidermidis</i> ○Sadaoka N <sup>1</sup> , Matsuo M <sup>2</sup> , LE NGUYEN TRA M <sup>2</sup> , Shiba H <sup>1</sup> , Komatsuzawa H <sup>2</sup> (1 <sup>st</sup> Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci Dept Biol Endod, 2 <sup>nd</sup> Hiroshima Univ Inst Biomed Health Sci Dept Bacteriol)
<b>2-PM32</b>	The roles of outer membrane vesicles of periodontal pathogens on development of Alzheimer's disease ○Yoshida K <sup>1</sup> , Yoshida K <sup>2</sup> , Seyama M <sup>1</sup> , Ozaki K <sup>1</sup> (1 <sup>st</sup> Dept Oral Health Care Promo, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, 2 <sup>nd</sup> Dept Oral Health Care Educ, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)
<b>2-PM33</b>	Analysis of lung epithelial barrier dysfunction and inflammatory response using three-dimensional lung tissue model infected with <i>Streptococcus pneumoniae</i> ○Akamatsu Y <sup>1,2</sup> , Sumitomo T <sup>1</sup> , Takahara Y <sup>1,3</sup> , Yamaguchi M <sup>1</sup> , Nakata M <sup>4</sup> , Akashi M <sup>5</sup> , Kawabata S <sup>1</sup> (1 <sup>st</sup> Dept Oral Microbiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, 2 <sup>nd</sup> Div Spec Needs Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent, 3 <sup>rd</sup> Dept Fixed Prosthodont, Osaka Univ Grad Sch Dent, 4 <sup>th</sup> Dept Oral Microbiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, 5 <sup>th</sup> Osaka Univ)
<b>2-PM34</b>	Establishment and evaluation of a three-dimensional culture system for oral squamous cell carcinoma cells ○Ikeda R <sup>1,2</sup> , Iwanaga K <sup>2</sup> , Yamasaki R <sup>1</sup> , Yoshioka Y <sup>1</sup> , Ariyoshi W <sup>1</sup> (1 <sup>st</sup> Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ, 2 <sup>nd</sup> Div Oral Med, Kyushu Dent Univ)

#### Pathology (Morita Award)

<b>2-PM35</b>	Functional analysis of chemokines in pulmonary lesion of Sjogren's syndrome model mice ○Sato M, Otsuka K, Tsunematsu T, Ishimaru N (Dept Oral Mol Pathol Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci)
<b>2-PM36</b>	The most appropriate combination of up-conversion particles and tumor-affinity photosensitive substances for photodynamic therapy ○Cui J, Isono H, Okamura T, Tominaga K (Dept Oral Pathol, Osaka Dent Univ)
<b>2-PM37</b>	A comprehensive analysis of ChIP-seq-based Foxc1 target genes in mouse embryonic submandibular gland ○Yukimori A <sup>1</sup> , Tanaka J <sup>1</sup> , Ohnuma S <sup>1</sup> , Yasuhara R <sup>1</sup> , Ohba S <sup>2</sup> , Mishima K <sup>1</sup> (1 <sup>st</sup> Div Pathol, Dept Oral Diag Sci, Showa Univ, Sch Dent, 2 <sup>nd</sup> Dept Oral Anat Deve Biol, Osaka Univ, Grad Sch Dent)
<b>2-PM38</b>	Wnt signaling promotes tooth germ development through YAP1-TGF- $\beta$ signaling ○Nagano R <sup>1,2</sup> , Fujii S <sup>1,3</sup> , Kiyoshima T <sup>1</sup> (1 <sup>st</sup> Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent Sect, 2 <sup>nd</sup> Sect Periodontol, Kyushu Univ Grad Sch Dent Sect, 3 <sup>rd</sup> DDR Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent Sect)
<b>2-PM39</b>	The AhR endogenous ligand FICZ regulates bone homeostasis by regulating osteoclast differentiation via the AhR/Cyp1a1 signaling axis ○Yoshikawa Y, Izawa T, Kamioka H (Dept Orthodont Grad Sch Med, Dent and Pharma Sci Okayama Univ)
<b>2-PM40</b>	Impact of maternal odontogenic infection of <i>Porphyromonas gingivalis</i> on brain of mouse offspring ○Ishida E <sup>1</sup> , Furusho H <sup>2</sup> , Shiba F <sup>2</sup> , Tsuga K <sup>1</sup> , Miyauchi M <sup>2</sup> (1 <sup>st</sup> Dept Adv Prosthodont, Hiroshima Univ Grad Sch of Biomed Health Sci, 2 <sup>nd</sup> Dept Oral Maxillofac Pathobiol, Hiroshima Univ Grad Sch of Biomed Health Sci)
<b>2-PM41</b>	Effects of systemic transplantation of M2 macrophages on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw-like lesions in mice ○Kozutsumi R, Kuroshima S, Sasaki M (Dept Appl Prosthodont, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
<b>2-PM42</b>	Investigation of the role of Semaphorin 3A (Sema3A), an axonal guidance factor, in salivary gland development and adenoid cystic carcinoma tumorigenesis ○Fujimoto T <sup>1,2</sup> , Fujii S <sup>2,3</sup> , Kiyoshima T <sup>2</sup> (1 <sup>st</sup> Sect Oral Maxillofac Surg, Kyushu Univ Grad Sch Dent, 2 <sup>nd</sup> Sect Oral Pathol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, 3 <sup>rd</sup> DDR Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>2-PM43</b>	Analysis of genes of endothelial cells related to COVID-19 aggravation using a mouse infection model ○Takeda R <sup>1,2</sup> , Maishi N <sup>1</sup> , Hida K <sup>1</sup> (1 <sup>st</sup> Dept Vas Biol & Mol Pathol Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, 2 <sup>nd</sup> Dept Oral Diagn Med Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
<b>2-PM44</b>	Skeleton-dependent stem cell diversity explored from the healing process of extraction sockets and femoral bone defects ○Ito S <sup>1</sup> , Kasahara N <sup>2</sup> , Kitamura K <sup>2</sup> , Matsunaga S <sup>3</sup> , Mizoguchi T <sup>1</sup> , Kasahara M <sup>1</sup> , Yamaguchi A <sup>4</sup> (1 <sup>st</sup> Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll, 2 <sup>nd</sup> Dept Histol and Devel Biol, Tokyo Dent Coll, 3 <sup>rd</sup> Dept Anat, Tokyo Dent Coll, 4 <sup>th</sup> Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll)
<b>2-PM45</b>	Inhibitors against cystine transporter xCT exhibit antitumor effects on FOXA1-low-expressing oral squamous cell carcinomas ○Okazaki S, Imai K (Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>2-PM46</b>	Basic research for regeneration of periodontal ligament using human pluripotent stem cell-derived neural crest cells ○Takahashi Y <sup>1,2</sup> , Yasuhara R <sup>1</sup> , Tanaka J <sup>1</sup> , Maki K <sup>2</sup> , Mishima K <sup>1</sup> (1 <sup>st</sup> Div Pathol, Showa Univ Sch Dent, 2 <sup>nd</sup> Dept Orthodont, Showa Univ Sch Dent)

<b>2-PM47</b>	Effect of thermostable cultured coral exoskeleton applied as bone replacement material on experimental one-walled infrabony defects ○Ikeda H <sup>1,2,3</sup> , Okamura T <sup>3</sup> , Nishikawa T <sup>4</sup> , Tominaga K <sup>3</sup> , Iseki T <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Div Oral Maxillofac Surg (1), Osaka Dent Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Div Oral Maxillofac Surg (1), Osaka Dent Univ, <sup>3</sup> Div Oral Pathol, Osaka Dent Univ, <sup>4</sup> Div Adv Clin Educ, Osaka Dent Univ)
<b>2-PM48</b>	Mineralization ability of calcium silicate cement (Biodentine) on periodontal ligament tissue in perforated floor of pulp chamber ○Ezawa N <sup>1,2</sup> , Akashi Y <sup>2</sup> , Nakajima K <sup>2</sup> , Kokubun K <sup>2</sup> , Matsuzaka K <sup>2</sup> , Furusawa M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Endo, TDC Grad Sch, <sup>2</sup> Dept Pathol, TDC Grad Sch)
<b>2-PM49</b>	Single-cell RNA-seq and multiplex spatial analysis reveal the microenvironment in the target organ of Sjögren's syndrome ○Otsuka K <sup>1,2,3</sup> , Kondo H <sup>2</sup> , Tsukumo S <sup>2,3</sup> , Arakaki R <sup>1</sup> , Sato M <sup>1</sup> , Tsunematsu T <sup>1</sup> , Ishimaru N <sup>1</sup> , Yasutomo K <sup>2,3</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, <sup>2</sup> Dept Immunol Parasitol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, <sup>3</sup> Dept Int Res for Med Photo, Inst pLED, Tokushima Univ)
<b>2-PM50</b>	(withdrawn)
<b>2-PM51</b>	Basic study of the effects of low level LED light irradiation on the osteoblast like cells of derived from rat bone marrow ○Hattori T <sup>1</sup> , Ito Y <sup>1</sup> , Suzumura T <sup>1</sup> , Isomura M <sup>1,2</sup> , Kawai R <sup>1,3</sup> , Yoshida W <sup>1,3</sup> , Sugita Y <sup>1,3</sup> , Kubo K <sup>1,3</sup> , Maeda H <sup>1,3</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Pathol and Forensic Dent, Aichi Gakuin Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Fujita Health Univ Sch Med Diagnostic Pathol, <sup>3</sup> Res Inst Adv Oral Sci, Aichi Gakuin Univ)
<b>2-PM52</b>	Tumor inhibitory effect of epigenetic agents on oral squamous cell carcinoma ○Takahashi S, Yoshida K, Abiko Y (Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent Div Oral Med Pathol)
<b>2-PM53</b>	Beneficial effect of bee pollen on a human skin keratinocyte cell exposed to UVB radiation ○Khurelchuluun A <sup>1,2</sup> , Takahashi S <sup>1</sup> , Yoshida K <sup>1</sup> , Abiko Y <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Oral Med Pathol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent, <sup>2</sup> Div Oral Maxillofac Surg, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
<b>2-PM54</b>	Localization of choline transporter like protein 1 (CTL1) as cell proliferation in oral cancer ○Hashimoto N <sup>1</sup> , Nakajima K <sup>2</sup> , Akashi Y <sup>2</sup> , Kokubun K <sup>2</sup> , Sugahara K <sup>1</sup> , Katakura A <sup>1</sup> , Matsuzaka K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Pathobiological Sci Surg, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Pathol, Tokyo Dent Coll)

#### Pharmacology (Morita Award)

<b>2-PM55</b>	Deletion of GM2/GD2 synthase in mice resulted in the attenuation of bone formation ○Sasaki E <sup>1,2</sup> , Mishima Y <sup>1</sup> , Sato T <sup>2</sup> , Miyazawa K <sup>2</sup> , Goto S <sup>2</sup> , Hamamura K <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Pharmacol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Orthodont, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent)
<b>2-PM56</b>	Anti-inflammatory activity of 2-methoxy-4-vinylphenol involves transcriptional inhibition of lipopolysaccharide-induced iNOS by HO-1 ○Asami E <sup>1,3</sup> , Kitami M <sup>1</sup> , Ida T <sup>2</sup> , Kobayashi T <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent, <sup>2</sup> Dept Cariol, Oper Dent Endodont, Niigata Univ Grad Sch of Med Dent, <sup>3</sup> Dept Reconstruct Surg for Oral and Maxillofac Region, Niigata Univ Grad Sch Med Dent)
<b>2-PM57</b>	The role of itaconate in cancer progression ○Saeki A <sup>1</sup> , Hayashi Y <sup>1,2</sup> , Jimi E <sup>1</sup> , Kawakubo-Yasukochi T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>2</sup> Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll)
<b>2-PM58</b>	Bone resorption inhibitor administration to pregnant mice results in tooth disorder development in neonates ○Yamaguchi M <sup>1,2,3</sup> , Sakai N <sup>4</sup> , Karakawa A <sup>2,3</sup> , Chatani M <sup>2,3</sup> , Azetsu Y <sup>2,3</sup> , Takami M <sup>2,3</sup> ( <sup>1</sup> Showa Univ Dept Pediatr Dent Sch Dent, <sup>2</sup> Showa Univ Dept Pharmacol Dent Sch Dent, <sup>3</sup> Showa Univ Dept Pharmacol Res Cent, <sup>4</sup> Showa Univ Dept Dent Educ Sch Dent)
<b>2-PM59</b>	The mechanism of exocrine regulated by arginase 1 in mouse salivary and lacrimal glands ○Ohno Y <sup>1</sup> , Nagase H <sup>1</sup> , Satoh K <sup>2</sup> , Shitara A <sup>1</sup> , Nakamoto T <sup>3</sup> , Kashimata M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Oral Implantol, Asahi Univ Sch Dent)
<b>2-PM60</b>	Synergistic effect of topical application of TRP channel antagonists on experimental tooth movement-induced pain ○Yugawa M <sup>1</sup> , Satoh K <sup>2</sup> , Suda N <sup>1</sup> , Adachi K <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Div Orthod, Meikai Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent)
<b>2-PM61</b>	Effect of administration of bisphosphonate preparation on femur with mild type hypophosphatase ○Takahashi A <sup>1</sup> , Hirai K <sup>2</sup> , Matsunaga S <sup>3</sup> , Kasahara N <sup>4</sup> , Abe S <sup>3</sup> , Shintani S <sup>2</sup> , Kasahara M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pharmacol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Pediatr Dent, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup> Dept Anat, Tokyo Dent Coll, <sup>4</sup> Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll)
<b>2-PM62</b>	Small GTPase Cdc42 regulates AQP5 expression through different mechanisms in parotid and lacrimal glands ○Nagase H <sup>1</sup> , Ohno Y <sup>1</sup> , Satoh K <sup>2</sup> , Kashimata M <sup>1</sup> , Shitara A <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Asahi Univ Sch Dent, Dept Dent Pharmacol, <sup>2</sup> Meikai Univ Sch Dent, Div Pharmacol)
<b>2-PM63</b>	Identification and characterization of a microRNA regulating adipocyte inflammation ○Elsheikh M <sup>1</sup> , Sano T <sup>2</sup> , Mizokami A <sup>3</sup> , Kanematsu T <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Cell Biol Aging Sci & Pharmacol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>2</sup> Dept Cell Biol Aging Sci & Pharmacol, Fac Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>3</sup> OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ)
<b>2-PM64</b>	Role of blood flow changes on acetylcholine-induced salivary secretion in rat strains with different level of aquaporin 5 ○MST Akter T, Nezu A, Tanimura A (Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
<b>2-PM65</b>	Imaging of bone invasion by squamous cell carcinoma using bone calcification labeling and tissue clearing techniques ○Shimatani M <sup>1</sup> , Nezu A <sup>2</sup> , Semba S <sup>2</sup> , Tanimura A <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Div Reconstructive Surg Oral Maxillofac Reg, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent, <sup>2</sup> Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent)

(September 19, 8 : 40-16 : 20)

<b>3-PG1</b>	Spatiotemporal gene expression regions in mouse embryos before and after palatal elevation ○Nagasaka A <sup>1</sup> , Sakiyama K <sup>2</sup> , Bando Y <sup>1</sup> , Onozawa G <sup>3</sup> , Amano O <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Hist, Meikai Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Anat, Meikai Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Div Oral Maxillofac Surg, Meikai Univ Sch Dent)
--------------	--

<b>3-PG2</b>	Tongue morphogenesis and cell behavior in embryonic mice ○Taya Y, Kawamoto S, Hani T, Kudo T, Sato K, Soeno Y (Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
<b>3-PG3</b>	Transcription factor Nfix regulates myogenic differentiation in embryonic mouse tongue development ○Sato K <sup>1</sup> , Kawamoto S <sup>1</sup> , Taya Y <sup>1</sup> , Sasaki Y <sup>2</sup> , Hani T <sup>1</sup> , Tsubosaki K <sup>1</sup> , Kudo T <sup>1</sup> , Soeno Y <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pathol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, <sup>2</sup> Dept Dent, Kanagawa Child Med Cent, Yokohama)
<b>3-PG4</b>	Behavior of NG2-positive cells in tooth development and odontoblast regeneration ○Ouchi T <sup>1</sup> , Kurashima R <sup>1</sup> , Kimura M <sup>1</sup> , Kuroda H <sup>2</sup> , Mizoguchi T <sup>3</sup> , Shibukawa Y <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Dent Anesthesiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> Oral Health Sci Cent, Tokyo Dent Coll)
<b>3-PG5</b>	A subset of taste bud cells sense internal nutritional status via mTOR signalling ○Takai S <sup>1</sup> , Iwata S <sup>1,2</sup> , Sanematsu K <sup>1,2,3</sup> , Kawabata Y <sup>4</sup> , Hirayama A <sup>1,5</sup> , Watanabe Y <sup>1,6</sup> , Shigemura N <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>2</sup> R and D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ, <sup>3</sup> OBT Cent, Kyushu Univ, <sup>4</sup> Dept Cell Biol, Aging Sci, Pharmacol, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>5</sup> Sect, Orthodont and Dentofac Orthopedics, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>6</sup> Sect Implant and Rehabil Dent, Kyushu Univ)
<b>3-PG6</b>	A role of primary cilium related genes during mouse craniofacial development ○Nakatomi M <sup>1</sup> , Matsuyama K <sup>2</sup> , Kataoka S <sup>2</sup> , Toyono T <sup>2</sup> , Seta Y <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Human, Information and Life Sci, Sch Health Sci, Univ of Occupational and Environmental Health, <sup>2</sup> Div Anat, Kyushu Dent Univ)
<b>3-PG7</b>	Preparation of exosomes from whole human saliva and their comparison with those from SAS cell medium ○Imai A <sup>1</sup> , Takezawa H <sup>2</sup> , Oka S <sup>3</sup> , Tsujimura M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dent Hygiene, Nippon Dent Univ Coll at Niigata, <sup>2</sup> Dept Biochem Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>3</sup> Dept Biol Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>4</sup> Dept Histol Nippon Dent Univ at Niigata)
<b>3-PG8</b>	Sorting mechanism of secretory proteins in parotid acinar cells ○Fujita-Yoshigaki J, Yokoyama M, Katsumata-Kato O (Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
<b>3-PG9</b>	BMP2 enhances the proliferative capacity in primary culture of parotid acinar cells ○Yokoyama M, Katsumata-Kato O, Fujita-Yoshigaki J (Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
<b>3-PG10</b>	Involvement of FAT/CD36 expression in parotid salivary secretion in male mouse ○Satoh K <sup>1</sup> , Ohno Y <sup>2</sup> , Nagase H <sup>2</sup> , Kashimata M <sup>2</sup> , Adachi K <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pharmacol, Meikai Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Dent Pharmacol, Asahi Univ Sch Dent)
<b>3-PG11</b>	Regulation mechanism of Ca <sup>2+</sup> and blood flow oscillations occurring throughout a submandibular gland induced by acetylcholine ○Nezu A <sup>1</sup> , Morita T <sup>2</sup> , Ishii H <sup>3</sup> , Tanimura T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Div Pharmacol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Biochem, Nippon Dent Univ at Niigata, <sup>3</sup> Div Physiol, Health Sci Univ Hokkaido, Sch Dent)
<b>3-PG12</b>	Secretory potential of newly-formed secretory granules in rat parotid acinar cells using pro-cathepsin B ○Katsumata-Kato O, Yokoyama M, Fujita-Yoshigaki J (Dept Physiol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
<b>3-PG13</b>	Effect of rice consumption on cecal short chain fatty acids concentration and salivary IgA levels in rats ○Yamamoto Y <sup>1</sup> , Saruta J <sup>2</sup> , Sakaguchi W <sup>3</sup> , To M <sup>4</sup> , Tsukinoki K <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Dept Junior Coll, Kanagawa Dent Univ Sch Dent Hygiene, <sup>2</sup> Dept Educ Plan, Kanagawa Dent Univ, <sup>3</sup> Dept Environment Pathol, Kanagawa Dent Univ, <sup>4</sup> Dept Oral Anat, Kanagawa Dent Univ)
<b>3-PG14</b>	The small GTPase Cdc42 regulates salivary gland acinus formation ○Shitara A, Nagase H, Ohno Y, Kashimata M (Asahi Univ Sch Dent, Dept Dent Pharmacol)
<b>3-PG15</b>	Effects of peripheral nerve injury on the induction of c-Fos and phosphorylated ERK in the trigeminal sensory nuclear complex ○Terayama R, Uchibe K (Dept Maxillofac Anat & Neurosci, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci)
<b>3-PG16</b>	Differences in microRNA expression patterns contribute to sexually differential characteristics of microglia ○Mizokami A <sup>1</sup> , Sano T <sup>2</sup> , Yamawaki Y <sup>3</sup> , Jimi E <sup>1,4</sup> , Kanematsu T <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> OBT Res Cent, Fac Dent, Kyushu Univ, <sup>2</sup> Dept Cell Biol Aging Sci, & Pharmacol, Fac Dent, Kyushu Univ, <sup>3</sup> Lab Adv Pharmacol, Daiichi Univ Pharm, <sup>4</sup> Lab Mol Cell Biochem, Fac Dent, Kyushu Univ)
<b>3-PG17</b>	Effects of intermittent hypoxia on neural activities in layer II/III pyramidal cells of the somatosensory cortex in developing rats ○Toyoda H <sup>1</sup> , Hayata-Takano A <sup>2</sup> , Katagiri A <sup>1</sup> , Yamada M <sup>1</sup> , Takuma K <sup>2</sup> , Kato T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Pharmacol, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>3-PG18</b>	Does the suppression of taste responses elicited by sodium hypochlorite, as a root canal irrigation solution, depend on its concentration? ○Yamazaki M <sup>1</sup> , Tanaka M <sup>1</sup> , Sako N <sup>2</sup> , Kawano S <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Endodont, Asahi Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent)
<b>3-PG19</b>	Activation of the central amygdala decreases disgust and increases approach behavior in conditioned taste aversion ○Inui T <sup>1</sup> , Kikuchi E <sup>1,2</sup> , Funahashi M <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Physiol, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med, <sup>2</sup> Dept Orthodont, Hokkaido Univ Grad Sch Dent Med)
<b>3-PG20</b>	Kamishoyosan and Kamikihito enhance WNK-SPAK signaling and rescue the decreased KCC2 expression by the <i>P. gingivalis</i> LPS treatment in PC-12 cells ○Oohara Y <sup>1,2</sup> , Furukawa S <sup>1,3</sup> , Igarashi K <sup>1</sup> , Noguchi K <sup>3</sup> , Sugimura M <sup>2</sup> , Tomita K <sup>1</sup> , Sato T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Appl Pharmacol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Dept Dent Anesthesiol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>3</sup> Dept Periodontol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>3-PG21</b>	The behavioral taste responses of postmenopausal osteoporosis in mice ○Kawabata Y <sup>1,2</sup> , Oike A <sup>3</sup> , Takai S <sup>3</sup> , Iwata S <sup>3</sup> , Sanematsu K <sup>3,4</sup> , Shigemura N <sup>3,4</sup> , Kanematsu T <sup>2</sup> , Jimi E <sup>1,5</sup> ( <sup>1</sup> Lab Mol Cell Biochem, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Cell Biol Aging Sci & Pharmacol, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Oral Neurosci, Kyushu Univ Grad Sch Dent, <sup>4</sup> R&D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ, <sup>5</sup> OBT Res Cent, Kyushu Univ Grad Sch Dent)
<b>3-PG22</b>	Motoneuron-specific maturation of excitatory and inhibitory inputs to jaw-closing and jaw-opening motoneurons during postnatal period ○Nakamura S <sup>1</sup> , Noguchi T <sup>2</sup> , Kajiwaru R <sup>3</sup> , Nakayama K <sup>1</sup> , Mochizuki A <sup>1</sup> , Dantsuji M <sup>1</sup> , Inoue T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Physiol, Showa Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Spec Needs Dent, Div Oral Rehabil Med, Showa Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Peri Oper Med, Div Anesthesiol, Showa Univ Sch Dent)

<b>3-PG23</b>	Analysis of the mechanism contributing to cephalic-phase insulin release in mouse ○Takamori M, Yoshida R (Dept Oral Physiol, Grad Sch Med, Dent and Pharma Sci, Okayama Univ)
<b>3-PG24</b>	Tracing and photostimulation of projection neurons from the mouse spinal trigeminal nucleus to the thalamus using adeno-associated virus vectors ○Kuramoto E, Iwai H, Yamanaka A, Goto T (Dept Oral Anat Cell Biol, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent)
<b>3-PG25</b>	Genetic tracing reveals bitter taste-relaying neurons in the medial amygdala change their responses to sweet stimuli after conditioned taste aversion learning ○Sugita M (Dept Physiol Oral Physiol, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci)
<b>3-PG26</b>	Involvement of fatty acid receptors expressed in mouse posterior tongue in behavioral preference ○Yasumatsu K (Tokyo Dent Junior Coll)
<b>3-PG27</b>	Expression of taste receptor-related genes in orosensory ganglia and the brainstem ○Suwabe T, Yasuo T, Sako N, Nakamura F, Takahashi S (Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent)
<b>3-PG28</b>	Critical role of ELK1-mediated CIP2A upregulation in tumor growth and bone destruction in myeloma ○Seki A <sup>1,2</sup> , Teramachi J, Sawa Y <sup>1</sup> (Dept Oral Funct Anat, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, <sup>2</sup> Dept Dent Anesthesiol, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
<b>3-PG29</b>	Effect of oral bacteria on head and neck cancer cell lines and prognostic association ○Nishiyama K <sup>1</sup> , Inaba H <sup>2</sup> , Hamada M <sup>1</sup> , Yoshida S <sup>2</sup> , Matsumoto-Nakano M <sup>2</sup> (Dept Oral Surg 2, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Pediatr Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
<b>3-PG30</b>	<i>In vitro</i> vascular invasion model of oral cancer using immortalized endothelial cell-line ○Kudo T, Tsubosaki K, Hani T, Kawamoto S, Sato K, Taya Y, Soeno Y (Dept Pathol Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo)
<b>3-PG31</b>	Regulatory mechanisms of tumor-associated macrophages in the tumor microenvironment ○Sano T <sup>1</sup> , Du H <sup>1</sup> , Mizokami A <sup>2</sup> , Kanematsu T <sup>1</sup> (Dept Cell Biol Aging Sci & Pharmacol, Fac Dent Sci, Kyushu Univ, <sup>2</sup> OBT Res Cent, Fac Dent Sci, Kyushu Univ)
<b>3-PG32</b>	The novel function of Borealin, which is a component of chromosome passenger complex, in head and neck squamous cell carcinoma ○Tsunematsu T, Tawara H, Sato M, Arakaki R, Otsuka K, Ushio A, Ishimaru N (Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)
<b>3-PG33</b>	Molecular mechanisms of a novel dual anti-inflammatory and anti-proliferative 3-styrylchromone ○Tanuma S, Sakagami H (Meikai Univ Res Inst Odont)
<b>3-PG34</b>	<i>Equisetum arvense</i> inhibits osteoclastogenesis in a rat model of LPS-induced periodontitis ○Shiba F <sup>1</sup> , Furusho H <sup>2</sup> , Takata T <sup>2,3</sup> , Shimizu R <sup>4</sup> , Miyauchi M <sup>1,2</sup> (Oral Inflamm Regulation, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci, <sup>2</sup> Dept Oral Maxillofac Pathobiol Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci, <sup>3</sup> Shunan Univ, <sup>4</sup> R & D Head Res Lab Earth Co)
<b>3-PG35</b>	Comparative study of tissue structure and composition of human and canine tartar ○Chiba T <sup>1</sup> , Chiba-Ohkuma R <sup>2</sup> , Miake Y <sup>3</sup> , Mishima H <sup>4</sup> (Res Cent Elect Micro, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup> Dept Biochem Mol Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>3</sup> Dept Anat, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>4</sup> Dept Dent Eng, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
<b>3-PG36</b>	Correlation between estrogen level and periodontal disease progression in rats—Expression of HSP70— ○Amano K <sup>1</sup> , Inaba K <sup>2</sup> , Matsuo M <sup>1</sup> (Div Anat Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Div Microbiol Kanagawa Dent Univ Grad sch)
<b>3-PG37</b>	Gene expression of PTHrP and PTH1R during periodontal tissue healing process ○Horibe K, Nishida D, Nakamura H (Dept Oral Anat, Matsumoto Dent Univ)
<b>3-PG38</b>	Lithium reduces orthodontic root resorption by suppressing ischemic cell death, hyalinization, and odontoclasts formation in rats ○Hotokezaka H <sup>1</sup> , Moriishi T <sup>2</sup> , Hotokezaka Y <sup>3</sup> (Dept Orthod Dentofac Orthop, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, <sup>2</sup> Dept Cell Biol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, <sup>3</sup> Dept Clin Oral Oncol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
<b>3-PG39</b>	Inhibitory effect of anti-Interleukin-17-receptor antibody on alveolar bone resorption ○Sato T <sup>1</sup> , Hamada N <sup>2</sup> , Handa K <sup>1</sup> (Dept Oral Biochem, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Oral Microbiol, Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
<b>3-PG40</b>	Effect of excimer ultraviolet treatment of zirconia on initial attachment of L929 ○Akashi Y, Yamamoto K, Nakajima K, Kokubun K, Shimoo Y, Matsuzaka K (Dept Pathol, Tokyo Dent Coll)
<b>3-PG41</b>	Perfluorooctanoic acid induces cell death via ROS/ERK signaling in mouse ameloblast lineage cells ○Fujiwara N <sup>1,2</sup> , Ozaki K <sup>1</sup> , Suzuki M <sup>2</sup> (Dept Oral Health Care Promo, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci, <sup>2</sup> Dept Oral Biol, Dent Coll of Georgia, Augusta Univ)
<b>3-PG42</b>	Adenylyl cyclase activates Zn <sup>2+</sup> -sensitive Ca <sup>2+</sup> channels in odontoblasts ○Kimura M <sup>1</sup> , Ouchi T <sup>1</sup> , Kurashima R <sup>1</sup> , Kuroda H <sup>1,2</sup> , Ando M <sup>1</sup> , Kono K <sup>1</sup> , Nomura S <sup>1</sup> , Shibukawa Y <sup>1</sup> (Dept Physiol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Dent Anesthesiol, Kanagawa Dent Univ)
<b>3-PG43</b>	Three-dimensional and immunohistochemical observations of the formation of root bifurcation in molars ○Kikuchi N <sup>1</sup> , Kitamura K <sup>1</sup> , Kasahara N <sup>1</sup> , Ogawa Y <sup>1</sup> , Ishikawa N <sup>2</sup> , Yamamoto M <sup>3</sup> , Abe S <sup>3</sup> , Yamamoto H <sup>1</sup> (Dept Histol Dev Biol, Tokyo Dent Coll, <sup>2</sup> Dept Forensic Odontol Anthropol, Tokyo Dent Coll, <sup>3</sup> Dept Anat, Tokyo Dent Coll)
<b>3-PG44</b>	Histopathological study of dental pulp infection process in autoimmune diseases—Analysis in rheumatoid arthritis model mice— ○Yamazaki S, Ishii N, Mutoh N, Hayashi R, Itonaga K (Dept Endodont Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
<b>3-PG45</b>	Localization of Vitamin D receptor during dentin formation and regeneration ○Sato K <sup>1</sup> , Kakizawa K <sup>2</sup> , Takebe H <sup>1</sup> , Hosoya A <sup>1</sup> (Dept Histol, Sch Dent Health Sci Univ Hokkaido, <sup>2</sup> 5th Grade, Sch Dent Health Sci Univ Hokkaido)



<b>3-PG46</b>	Histopathological study of dental pulp infection process in autoimmune diseases—Analysis in IgA nephropathy model mice— ○Hayashi R, Ishii N, Mutoh N, Yamazaki S, Itonaga K (Dept Endodont Kanagawa Dent Univ Grad Sch Dent)
<b>3-PG47</b>	Effect of developed dental device for root canal using PEEK material on smear layer removal ○Hou YN, Okamura T, Ikeda C, Tominaga K (Dept Oral Pathol, Osaka Dent Univ)
<b>3-PG48</b>	Analyses of the interaction between crosslinker type of Advanced Glycation End products and the anti-AGEs drug alagebrum ○Shimizu M, Sugiyama K, Takashima A, Okada M, Miura J (Div Interdisci Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>3-PG49</b>	Examination of inhibition method for vascular glycation in dental pulp of diabetes rat ○Okada M, Shimizu M, Sugiyama K, Takashima A, Miura J (Div Interdisci Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>3-PG50</b>	The influence of tooth brushing on demineralized enamel: an experimental study ○Kanri Y <sup>1</sup> , Hasegawa Y <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Pathol, The Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Niigata, <sup>2</sup> Dept Dent Hygiene, The Nippon Dent Univ Coll at Niigata)
<b>3-PG51</b>	Differences in morphogenetic process between the premolar and the molar ○Haider Y <sup>1,2</sup> , Iwai H <sup>2</sup> , Kuramoto E <sup>2</sup> , Goto T <sup>2</sup> , Nakamura N <sup>1</sup> , Yamanaka A <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci Dept Anat Oral Sci)
<b>3-PG52</b>	Evaluation of direct pulp capping of rat pulp with glycated gelatin sponge ○Sugiyama K, Shimizu M, Takashima A, Okada M, Miura J (Div Interdisci Dent, Osaka Univ Grad Sch Dent)
<b>3-PG53</b>	Micro-FTIR observation of dentine stained with silver diamine fluoride ○Kuwada-Kusunose T <sup>1</sup> , Watanabe A <sup>2</sup> , Fuse M <sup>3</sup> , Okada H <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Lib Arts Biol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>2</sup> Dept Histol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, <sup>3</sup> Dept Lib Arts Chem, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
<b>3-PG54</b>	Age estimation based on the methylation rate of tooth-derived DNA using real-time methylation-specific PCR ○Kondo M, Ogata A, Aboshi H (Dept Leg Med, Nihon Univ Sch Dent)
<b>3-PG55</b>	Correlation of bone morphology and quality with melatonin intake in lactating rats ○Mishima H <sup>1</sup> , Matsumoto Y <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Dent Eng, Tsurumi Univ Sch Dent Med, <sup>2</sup> Fac Agric, Kagawa Univ)
<b>3-PG56</b>	Exploration of mandibular condylar chondrocytes aging mechanism by primary cilia ○Kitami M <sup>1</sup> , Kaku M <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Div Dent Pharmacol, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Div Bio-Prosthodont, Niigata Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>3-PG57</b>	Regulation of bone metabolism by 8-nitro-cGMP, a novel downstream signaling molecule of nitric oxide and reactive oxygen species ○Kaneko K <sup>1,2</sup> , Miyamoto Y <sup>1</sup> , Kamiyo R <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Biochem, Showa Univ, <sup>2</sup> Dept Oral Maxillofac Surg, Tokyo Med Univ)
<b>3-PG58</b>	EGR1 plays an important role in BMP9-mediated osteoblast differentiation by promoting SMAD1/5 phosphorylation ○Chiba N <sup>1</sup> , Seong CH <sup>2</sup> , Ohnishi T <sup>1</sup> , Matsuguchi T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Biochem, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci, <sup>2</sup> Dept Oral Maxillofac Surg, Kagoshima Univ Grad Sch Med Dent Sci)
<b>3-PG59</b>	An immunohistochemical study of extracellular matrices in embryonic chicken secondary cartilages ○Shibata S, Takahashi M, Shibui T, Irie K (Dept Anat, Health Sci Univ Hokkaido Sch Dent)
<b>3-PG60</b>	Tension force induces cell cycle arrest in osteocytes by activating expression of stress response ○Fujiwara K <sup>1,2</sup> , Shimizu N <sup>3,4</sup> , Takahashi T <sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Anat, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Div Funct Morpho, Dent Res Cent, Nihon Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Div Appl Oral Sci, Dent Res Cent, Nihon Univ Sch Dent, <sup>4</sup> Dept Orthodont, Nihon Univ Sch Dent)
<b>3-PG61</b>	Effect of porcine collagen or tilapia fish collagen immobilization on polylactic acid bioactive films for behavior of mouse osteoblast-like cells ○Fuse M <sup>1</sup> , Kusunose T <sup>2</sup> , Ogata Y <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> Dept Lib Arts Chem, Nihon Univ Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Lib Arts Biol, Nihon Univ Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Perio, Nihon Univ Sch Dent)
<b>3-PG62</b>	Inhibition of osteoclast differentiation mediated by $\beta$ -glucan-induced autophagy ○Ariyoshi W, Nagai-Yoshioka Y, Yamasaki R (Div Infect Mol Biol, Kyushu Dent Univ)
<b>3-PG63</b>	Effects of sialic acid receptor protein Siglec-15 neutralizing antibody on osteoclasts and osteoblasts ○Nakamura M <sup>1</sup> , Udagawa N <sup>1</sup> , Koide M <sup>2</sup> , Uehara S <sup>1</sup> , Yamashita T <sup>2</sup> , Kobayashi Y <sup>2</sup> ( <sup>1</sup> Dept Biochem, Matsumoto Dent Univ, <sup>2</sup> Inst Oral Sci, Matsumoto Dent Univ)
<b>3-PG64</b>	Retinoid-loaded nanoparticles enable targeted bone growth by modulating function of the growth plate ○Uchibe K, Terayama R (Dept Maxillofac Anat & Neurosci, Hiroshima Univ Grad Sch Biomed Health Sci)
<b>3-PG65</b>	Morphogenetic pattern of bony cerebellar tentorium with cranial growth of masked palm civet ( <i>Paguma larvata</i> ) ○Koyasu K, Ikeda Y (Dept Anat, Aichi Gakuin Univ Sch Dent)
<b>3-PG66</b>	Regenerative and morphological changes of myotendinous junction and effects on muscle function by collagenase injection ○Yamamoto Y, Watanabe G, Takagi T, Hirouchi H, Yamamoto M, Matsunaga S, Abe S (Dept Anat, Tokyo Dent Coll)
<b>3-PG67</b>	Differences of the rhythmic EMG activities between suckling and mastication in free-moving infant rats ○Yamada M <sup>1</sup> , Katagiri A <sup>1</sup> , Masuda Y <sup>3</sup> , Toyoda H <sup>1</sup> , Niwa H <sup>2</sup> , Kato T <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> Dept Oral Neurosci Oral Physiol, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>2</sup> Dept Dent Anesth, Osaka Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup> Dept Oral Maxillofac Biol, Grad Sch Oral Med Matsumoto Dent Univ)
<b>3-PG68</b>	Functional analysis of POU transcription factors in the human <i>TAS1R1</i> umami receptor gene expression ○Toyono T, Matsuyama K, Kataoka S, Seta Y (Kyushu Dent Univ, Div Anat)

<b>3-PG69</b>	Microcirculation analysis of systemic dysfunction to evaluate the Mibyou in rat models ○To M <sup>1</sup> , Takahashi S <sup>2</sup> , Takahashi SS <sup>3</sup> , Matsuo M <sup>1</sup> (1Dept Clin Oral Anat, Kanagawa Dent Univ, 2Dept Oral Physiol, Kanagawa Dent Univ, 3Dept Dent Pharmacol, Kanagawa Dent Univ)
<b>3-PG70</b>	Distribution of neurotransmitter agents in the human minor salivary glands ○Sato A, Yajima T, Ichikawa H, Sato T (Div Oral Craniofac Anat, Tohoku Univ Grad Sch Dent)
<b>3-PG71</b>	Analysis of neural responses of the parabrachial nucleus and suprachiasmatic nucleus to sodium stimuli in an animal model of zinc deficiency taste disorder ○Kawano A <sup>1,2</sup> , Inui C <sup>2</sup> , Wakisaka S <sup>2,3</sup> (1Dept Oral Health Sci, Otemae Coll, 2Dept Oral Anat Dev Biol, Osaka Univ Grad Sch Dent, 3Kansai Women's Coll)
<b>3-PG72</b>	Analysis of the regulatory mechanisms of nuclear transport of IL-1 $\alpha$ ○Yamamoto A, Wake K, Tsunoda M, Fukui R, Asano M (Dept Pathol, Nihon Univ Sch Dent)
<b>3-PG73</b>	Regulatory mechanisms of inflammatory responses by Rab44 protein ○Kadowaki T <sup>1</sup> , Yamaguchi Y <sup>2</sup> , Sato K <sup>1</sup> , Tsukuba T <sup>2</sup> (1Dept Front Oral Sci, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ, 2Dept Dent Pharmacol, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ)
<b>3-PG74</b>	Overexpression of SGLT2 in the kidney of a <i>P. gingivalis</i> LPS-induced diabetic nephropathy mouse model ○Kajiwara K <sup>1</sup> , Sawa Y <sup>2</sup> (1Div Orthodont, Fukuoka Dent Coll, 2Dept Oral Funct Anat, Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci)
<b>3-PG75</b>	Taste nerve response to NaCl is suppressed depends on magnitude of viscosity of the stimulus in rats ○Maeda C <sup>1</sup> , Nakamura F <sup>2</sup> , Yasuo T <sup>2</sup> , Suwabe T <sup>2</sup> , Iwase Y <sup>1</sup> , Gen K <sup>1</sup> , Sako N <sup>2</sup> (1Dept Dent for Disabil & Oral Health, Asahi Univ Sch Dent, 2Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent)
<b>3-PG76</b>	The expression of amelogenin in oral cystic lesions ○Yin J, Okamura T, Ikeda C, Tominaga K (Dept Oral Pathol, Osaka Dent Univ)
<b>3-PG77</b>	Analysis of the effects of desmoglein 3 deficiency on keratinocytes ○Ogawa S <sup>1</sup> , Otani T <sup>2</sup> , Ogata K <sup>2</sup> , Inai T <sup>2</sup> (1Div Fixed Prosthodont, Fukuoka Dent Coll, 2Div Funct Struct, Fukuoka Dent Coll)
<b>3-PG78</b>	Comparison of enhanced IL-2 productions from anti-CD3 antibody-stimulated mouse spleen cells treated with Artepillin C or caffeic acid phenethyl ester (CAPE) ○Takahashi M <sup>1</sup> , Kamiya M <sup>2</sup> , Ikeno K <sup>1</sup> , Ueno K <sup>2</sup> , Umemura N <sup>2</sup> , Takayama E <sup>2</sup> , Kawaki H <sup>2</sup> , Nakamura G <sup>4</sup> , Muramatsu Y <sup>1</sup> , Kondoh N <sup>2</sup> (1Dept Oral Maxillofac Surg, Asahi Univ Sch Dent, 2Dept Oral Biochem, Asahi Univ Sch Dent, 3Dept Chem, Asahi Univ Sch Business Admin, 4Dept. R&D., Akitaya Head Office Co., Ltd)
<b>3-PG79</b>	Influence on gene expression of <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> in low pH condition ○Kuwahara-Shinozaki N <sup>1</sup> , Hiratsuka K <sup>2</sup> , Saito M <sup>1</sup> , Tanaka Y <sup>3</sup> , Takizawa-Hashizume T <sup>1</sup> , Kobayashi R <sup>1</sup> , Senpuku H <sup>1</sup> (1Dept Microbiol Immunol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, 2Dept Biochem Mol Biol, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo, 3Dept Spec Needs Dent, Nihon Univ Sch Dent at Matsudo)
<b>3-PG80</b>	The expression of anionic channel in laryngeal taste-bud like structure ○Hsu C, Nakatomi C, Ujihara I, Ono K (Div Physiol, Kyushu Dent Univ)
<b>3-PG81</b>	Gustatory test and taste preference in schoolchildren ○Saiki C <sup>1</sup> , Ide R <sup>1</sup> , Hashizume N <sup>1</sup> , Kawauchi Y <sup>1,2</sup> , Ishii H <sup>2</sup> (1Dept Physiol, Nippon Dent Univ Sch Life Dent at Tokyo, 2Ichikawa Dent Associ)
<b>3-PG82</b>	mRNA expression of sour taste receptors and lick rate responses to sour taste solutions in vitamin C-deficient condition ○Yasuo T, Nakamura F, Suwabe T, Takahashi S, Sako N (Dept Oral Physiol, Asahi Univ Sch Dent)
<b>3-PG83</b>	Response of TGF- $\beta$ isoforms in enamel epithelial cell differentiation ○Miyakawa Y <sup>1,2</sup> , Karakida T <sup>2</sup> , Risako O <sup>2</sup> , Yamamoto R <sup>2</sup> , Kobayashi S <sup>1</sup> , Asada Y <sup>1</sup> , Yamakoshi Y <sup>2</sup> (1Dept Pediatr Dent, Tsurumi Univ Sch Dent Med, 2Dept Biochem Mo Biol, Tsurumi Univ Sch Dent Med)
<b>3-PG84</b>	ATM-associated signaling triggers the endoplasmic reticulum stress and cell death in response to stress ○Hotokezaka Y <sup>1</sup> , Hotokezaka H <sup>2</sup> (1Dept Clin Oral Oncol, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci, 2Dept Orthod Dentofac Orthop, Nagasaki Univ Grad Sch Biomed Sci)
<b>3-PG85</b>	The neuropeptide receptor VIPR2 regulates tumor cell migration through PI3K pathway ○Asano S, Ago Y (Dept Cell Mol Pharmacol, Grad Sch Biomed Health Sci, Hiroshima Univ)
<b>3-PG86</b>	Capsaicin enhances responses of the gustatory nerve to sugars and salt in mice ○Iwata S <sup>1,2</sup> , Yoshida R <sup>3</sup> , Takai S <sup>1</sup> , Sanematsu K <sup>1,2,4</sup> , Shigemura N <sup>1,2</sup> , Ninomiya Y <sup>3,5</sup> (1Sect Oral Neurosci, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, 2Div Sens Physiol Med Appl Sensing, R&D Cent for Five-Sense Devices, Kyushu Univ, 3Dept Oral Physiol, Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Okayama Univ, 4OBT Res Cent, Grad Sch Dent Sci, Kyushu Univ, 5Monell Chem Senses Cent, USA)
<b>3-PG87</b>	Effect of the administration of culture supernatant from dental pulp cells in 3-wall periodontal defects ○Montenegro Raudales JL, Honda M (Div Oral Anat, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent)

(September 17, 13 : 00-19 : 00)

#### Undergraduate Student (Morita Award)

<b>1-PMS1</b>	The effect of iberin on the production of inflammatory mediators in human oral epithelial cells ○Fujii A, Kadena K, Sato J, Shimoyama M, Hosokawa I, Hosokawa Y (Dept Regen Dent Med, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)
---------------	---

<b>1-PMS2</b>	<p>Synergistic effect of <i>Porphyromonas gingivalis</i> fimbriae on the lipopolysaccharide-induced production of interleukin-6 in human monocytic cells</p> <p>○Toyama M<sup>1,2</sup>, Tada H<sup>2</sup>, Numazaki K<sup>2</sup>, Matsushita K<sup>3</sup>, Sugawara S<sup>2</sup> (<sup>1</sup>6th grade, Dent Sch, Tohoku Univ, <sup>2</sup>Div Oral Immunol, Tohoku Univ Grad Sch Dent, <sup>3</sup>Dept Oral Dis Res, NCGG)</p>
<b>1-PMS3</b>	<p>Effect of probiotic butyric acid bacteria in periodontal disease in mice</p> <p>○Nakamura M<sup>1</sup>, Kishikawa S<sup>2</sup>, Nagao J<sup>2,3</sup>, Tanaka Y<sup>2,3</sup> (<sup>1</sup>Undergraduate research student program, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, <sup>3</sup>Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll)</p>
<b>1-PMS4</b>	<p>Pathological analysis of nasal tissue in a murine model of Sjogren's syndrome</p> <p>○Tamura K, Kawahito Y, Sato M, Otsuka K, Tsunematsu T, Ishimaru N (Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)</p>
<b>1-PMS5</b>	<p>Role of Mucin 19 in Pathogenesis of Sjogren's Syndrome using a mouse model of NFS/<i>sld</i> mice</p> <p>○Kawahito Y, Tamura K, Tsunematsu T, Sato M, Otsuka K, Ishimaru N (Dept Oral Mol Pathol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)</p>
<b>1-PMS6</b>	<p>Involvement of sox genes during the formation of medaka pharyngeal tooth and pedicle</p> <p>○Sato M<sup>1</sup>, Yumoto K<sup>1</sup>, Morita T<sup>2</sup>, Sumida K<sup>2</sup>, Baba O<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Tokushima Univ Fac of Dent, <sup>2</sup>Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci Dept Maxillofac Anat)</p>
<b>1-PMS7</b>	<p>Effects of <i>Mfa1</i> site-directed mutagenesis on fimbriation of <i>Porphyromonas gingivalis</i></p> <p>○Oishi A, Naiki Y, Iwase T, Sakae T, Hasegawa Y (Div Microbiol, Aichi-Gakuin Univ Sch Dent)</p>
<b>1-PMS8</b>	<p>Screening and analysis of human oral bacteria that inhibit the growth of periodontal pathogen</p> <p>○Ikuta S<sup>1</sup>, Nagao J<sup>2,3</sup>, Tanaka Y<sup>2,3</sup> (<sup>1</sup>Undergraduate research student program, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, <sup>3</sup>Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll)</p>
<b>1-PMS9</b>	<p>Therapeutic benefits of factors derived from stem cells from human exfoliated deciduous teeth for radiation-induced mouse xerostomia</p> <p>○Oki Y, Kano F, Nishihara T, Hashimoto N, Yamamoto A (Dept Anat Histol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)</p>
<b>1-PMS10</b>	<p>Analysis of host responses against secondary infection of <i>Candida albicans</i></p> <p>○Mizukami K<sup>1</sup>, Toyonaga K<sup>2</sup>, Tanaka Y<sup>2,3</sup> (<sup>1</sup>Research Student, Fukuoka Dent Coll, <sup>2</sup>Div Infect Biol, Fukuoka Dent Coll, <sup>3</sup>Oral Med Res Cent, Fukuoka Dent Coll)</p>
<b>1-PMS11</b>	<p>Identification of pluripotency regulators by inhibitor screening</p> <p>○Omoto M, Terashima M, Miyake N, Moriuchi K, Shao W, Mouri Y, Kudo Y (Dept Oral Biosci, Tokushima Univ)</p>
<b>1-PMS12</b>	<p>The role of Transforming growth factor beta-induced (TGFBI) in the progression of oral cancer</p> <p>○Sarubo M<sup>1</sup>, Shao W<sup>2</sup>, Yamaguchi Y<sup>2</sup>, Mouri Y<sup>2</sup>, Kudo Y<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Tokushima Univ Sch Dent, <sup>2</sup>Dept Oral Biosci Tokushima Univ Grad Sch Biomed Sci)</p>
<b>1-PMS13</b>	<p>Development of a novel treatment for rheumatoid arthritis using soluble sialic acid binding lectin and MCP-1</p> <p>○Sayama Y, Morioka R, Kano F, Hashimoto N, Yamamoto A (Dept Anat Histol, Tokushima Univ Grad Sch Inst Biomed Sci)</p>