

大阪大学歯学会

第114回例会

プログラムおよび講演抄録集

日 時 平成24年7月5日(木) 15:30～19:10

場 所 大阪大学歯学部 口腔科学研究棟5階 弓倉記念ホール

特別講演 「オートファジーによる病原菌捕獲の仕組み」

大阪大学大学院歯学研究科 口腔科学フロンティアセンター 野田 健司

「歯科保存学の未来への扉を開く」

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室) 林 美加子

平成23年度 大阪大学歯学会 優秀研究奨励賞 受賞講演

「Antibiofilm Effects of Azithromycin and Erythromycin on *Porphyromonas gingivalis*」

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室) 前 蘭 葉月

「Hydrogel-based biomimetic environment for *in vitro* modulation of branching morphogenesis」

大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座 (歯科理工学教室) 宮 嶋 宏行

大学院活動成果報告

平成23年度 大阪大学歯学会 優秀海外発表大学院生奨励賞 受賞講演

講演者へのお願い

- 1) 発表に用いる電子ファイル (Power Point) を、歯学会事務室へご送付願います。
- 2) 発表用 PC は、Windows XP + Power Point 2007 です。
- 3) 液晶プロジェクターは一面の使用が可能です。
- 4) 一般演題の講演時間は8分、討論は2分です。

参加者へのお願い

- 1) 日歯生涯研修カードをお持ち下さい。

プログラム

開会の挨拶 (15:30)

副会長：由良 義明

【一般演題】 (15:35 ~ 16:35)

座長：墨 哲郎

(15:35 ~ 15:45)

1) 破骨細胞の分化を誘導する小分子化合物の探索 ----- 1

阪大院歯 顎口腔病病因病態制御学講座 (薬理学教室)¹

阪大院歯 口腔分化発育情報学講座 (顎顔面口腔矯正学教室)²

阪大院歯 顎口腔機能再建学講座 (歯科補綴学第一教室)³

○水田 亜希子^{1,2}, 佐伯 万騎男¹, 江草 宏³, 高田 健治², 上崎 善規¹

(15:45 ~ 15:55)

2) 精巣ライディッヒ細胞における C1q/TNF-related protein 3 (CTRP3) の発現とテストステロン産生促進作用 ----- 2

阪大院歯 顎口腔病病因病態制御学講座 (口腔外科学第一教室)¹

阪大院歯 口腔分化発育情報学講座 (口腔解剖学第一教室)²

○應谷 昌隆^{1,2}, 前田 隆史², 脇坂 聡², 古郷 幹彦¹

(15:55 ~ 16:05)

3) ラット working heart brain stem preparation における嚥下活動の解析 ----- 2

阪大院歯 顎口腔病病因病態制御学講座 (口腔外科学第一教室)

○青海 哲也, 山西 整, 原田 丈司, 小橋 寛薫, 古郷 幹彦

座長：石垣 尚一

(16:05 ~ 16:15)

4) 口腔扁平苔癬の免疫組織学的特徴について ----- 3

阪大院歯 顎口腔病病因病態制御学講座 (口腔病理学教室)¹

阪大院歯 検査部²

○大下 康子¹, 岸野 万伸¹, 宇佐美 悠², 佐藤 淳¹, 小川 裕三¹, 豊澤 悟¹

(16:15 ~ 16:25)

5) 外科的矯正治療を施行した骨格性反対咬合を伴う片側性唇顎口蓋裂の二症例 -三次元顔画像評価を加えて ----- 4

阪大院歯 口腔分化発育情報学講座 (顎顔面口腔矯正学教室)

○新宅 優子, 谷川 千尋, 高田 健治

(16:25 ~ 16:35)

6) 当科における口唇裂・口蓋裂症例の臨床的検討 ----- 5

阪大院歯 顎口腔病病因病態制御学講座 (口腔外科学第一教室)

○田中 輝, 應谷 昌隆, 山西 整, 森本 泰成, 辻 忠孝, 青海 哲也, 大槻 浩一, 木田久美子, 磯村恵美子, 石濱 孝二, 古郷 幹彦

休憩 (16:35 ~ 16:40)

【大学院活動成果報告】平成 23 年度 大阪大学歯学会 優秀海外発表大学院生奨励賞受賞講演 (16:40 ~ 17:10)

司会：由良 義明

(16:40 ~ 16:55)

7) 優秀海外発表大学院生奨励賞を受賞して ----- 6

阪大院歯 顎口腔病病因病態制御学講座 (口腔外科学第一教室)

頭蓋顎顔面発生発育機構学講座

(大阪府立母子保健総合医療センター 研究所 環境影響部門)

宮川 和晃

(16:55 ~ 17:10)

8) 優秀海外発表大学院生奨励賞を受賞して ----- 6

阪大院歯 顎口腔機能再建学講座 (歯科補綴学第二教室)

阪大院歯 口腔分子免疫制御学講座 (生化学教室)

高島 利加子

休 憩 (17:10 ~ 17:15)

(17:15 ~ 17:25) 平成 23 年度 大阪大学歯学会 優秀研究奨励賞 表彰式

【受賞講演】平成 23 年度 大阪大学歯学会 優秀研究奨励賞 受賞講演 (17:25 ~ 17:55)

司会：脇坂 聡

(17:25 ~ 17:40)

9) 「Antibiofilm Effects of Azithromycin and Erythromycin on *Porphyromonas gingivalis*」 ----- 7

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)

○前歯 葉月, 野村由一郎

(17:40 ~ 17:55)

10) 「Hydrogel-based biomimetic environment for *in vitro* modulation of branching morphogenesis」 ----- 8

大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座 (歯科理工学教室)¹

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体材料学分野²

○宮嶋 宏行¹, 松本 卓也^{1,2}

【一般演題】

(17:55 ~ 18:05)

11) mTOR 結合タンパク質 PIH1D1 が rRNA 転写に及ぼす影響 ----- 9

阪大歯 (4 年次学生)¹

阪大院歯 顎口腔病態制御学講座 (薬理学教室)²

阪大院歯 顎口腔機能再建学講座 (歯科補綴学第一教室)³

○外園 真規¹, 杉本亜莉沙¹, 佐伯万騎男², 江草 宏³, 上崎 善規²

休 憩 (18:05 ~ 18:10)

【特別講演】(18:10 ~ 19:10)

司会：脇坂 聡

(18:10 ~ 18:40)

12) 「オートファジーによる病原菌捕獲の仕組み」 ----- 10

大阪大学大学院歯学研究科 口腔科学フロンティアセンター

野田 健司

(18:40 ~ 19:10)

13) 「歯科保存学の未来への扉を開く」 ----- 11

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)

林 美加子

閉会の挨拶 (19:10)

会長：脇坂 聡

開会の挨拶 (15:30)

副会長：由良 義明

【一般演題】 (15:35 ~ 16:35)

..... 座長：墨 哲郎

(15:35 ~ 15:45)

1) 破骨細胞の分化を誘導する小分子化合物の探索

阪大院歯
顎口腔病因病態制御学講座
(薬理学教室)¹
口腔分化発育情報学講座
(顎顔面口腔矯正学教室)²
顎口腔機能再建学講座
(歯科補綴学第一教室)³

○水田亜希子^{1,2}
佐伯万騎男¹
江草 宏³
高田 健治²
上崎 善規¹

【目的】

破骨細胞による骨吸収は、骨組織の機能と形態の調節に重要である。われわれはこれまでにマウス単球系細胞株 RAW264.7 細胞に破骨細胞分化のマスターレギュレーターである転写因子 NFAT のレポーターベクターを恒常的に発現させた細胞株を用いて、破骨細胞の分化を誘導する小分子化合物の探索を行ってきた。今回新たにケンパウロンが破骨細胞分化を著明に亢進することを見出した。

【方法】

マウス骨髄細胞由来マクロファージ系細胞および RAW264.7 細胞を RANKL で分化誘導し、TRAP 染色を行い、破骨細胞への分化を確認した。レポーターベクター導入 RAW264.7 細胞の NFAT 活性の測定は Luciferase assay により行った。

【結果および考察】

レポーターベクター導入 RAW264.7 細胞を用いて、小分子化合物 (Lopac 1280, Sigma) のスクリーニングを行ったところ、RANKL 誘導性の NFAT 活性を増強させる小分子化合物が多数見つかった。候補化合物の中から、TRAP 染色で破骨細胞分化を亢進するものをスクリーニングしたところ、GSK-3 beta 阻害薬のケンパウロンが濃度依存的に NFAT 活性および破骨細胞分化を著明に亢進することを見出した。他の GSK-3 beta 阻害薬の SB415286 および CHIR99021 も破骨細胞分化を亢進したことから、ケンパウロンは GSK-3 beta を阻害することで NFAT を活性化し、破骨細胞分化を増強することが示された。

(15:45 ~ 15:55)

2) 精巣ライディッヒ細胞における C1q/TNF- related protein 3(CTRP3) の発現とテストステロン産生促進作用

阪大院歯
顎口腔病因病態制御学講座
(口腔外科学第一教室)¹
口腔分化発育情報学講座
(口腔解剖学第一教室)²

○應谷 昌隆^{1,2}
前田 隆史²
脇坂 聡²
古郷 幹彦¹

【目的】

CTRP3 は抗糖尿病ホルモンとして知られるアディポネクチンと同様の構造をもつ一連の分子群である C1q/TNF ファミリーに属する分泌タンパクである。私たちは以前に CTRP3 が軟骨組織の発生・成長を調節する成長因子であることを報告した。今回、非骨格系組織における CTRP3 の発現を調べる過程で、同遺伝子が精巣で発現していることが確認されたため、精巣における CTRP3 タンパクの局在と生理的役割について検討した。

【方法】

生後 0、1、3、4、6 及び 8 週齢のマウス精巣組織を用いて免疫組織化学染色を行い、CTRP3 タンパクの局在と発現時期を調べた。次に、テストステロンを分泌する細胞であるマウスライディッヒ細胞株 TM3 を用いた培養系に、組み換え CTRP3 タンパクを添加し、BrdU の取り込みを指標として TM3 細胞の DNA 合成能に対する CTRP3 の影響を調べた。さらに、同培養系に組み換え CTRP3 タンパクを添加し、TM3 細胞のテストステロン産生に対する影響を、培養上清を試料として ELISA 法で検討した。

【結果】

生後 8 週齢のマウス精巣において、間質にあるライディッヒ細胞に特異的な CTRP3 の発現を認めた。一方、精巣の実質には発現を認めなかった。0、1 週齢ではライディッヒ細胞に CTRP3 の発現が認められなかったが、3、4、6 及び 8 週齢では発現を認めた。また、組み換え CTRP3 タンパクは TM3 ライディッヒ細胞の増殖には影響しなかったが、同細胞におけるテストステロン産生を濃度依存的に促進した。

【考察】

マウスの週齢では、0、1 週齢は新生児期、3 週齢は前思春期、4、6 週齢は思春期、8 週齢は成体期に相当する。CTRP3 タンパクの発現はライディッヒ細胞において、3 週齢に達する前思春期から弱く発現を開始し、4、6、8 週齢では強く発現することが明らかになった。また、TM3 ライディッヒ細胞培養系において CTRP3 タンパクはテストステロンの産生を促進することが明らかになった。以上の結果より、CTRP3 は思春期以降の精巣からのテストステロン分泌に関わっている可能性が示唆された。

(15:55 ~ 16:05)

3) ラット working heart brain stem preparation における嚥下活動の解析

阪大院歯
顎口腔病因病態制御学講座
(口腔外科学第一教室)

○青海 哲也
山西 整
原田 丈司
小橋 寛薫
古郷 幹彦

【目的】

ラット working heart brain stem preparation (WHBP) は全身麻酔薬の影響なしに in vivo に近い状態で延髄機能の解析が可能となる有用な実験標本である。本標本は近年呼吸活動の中樞機構の解析に中心的役割を果たしているものの、その他の延髄機能については本標本を用いた実験系の確立はなされていない。今回、我々は WHBP を用いて、嚥下運動を解析し得る実験系の確立を目的として研究を行った。

【材料および方法】

21 ~ 42 日齢 Wister 系ラットを用い、WHBP 標本を作成した。標本の自発的な呼吸性活動を確認した上で、上喉頭神経 (SLN) を剖出し電気刺激 (強度: 4.0 ~ 5.0V、刺激時間: 1ms、頻度: 単発および 1 ~ 3Hz の連続刺激) を加えた。神経および筋活動の記録は横隔神経、あるいは顎舌骨筋、咬筋、および中咽頭収縮筋から行った。

【結果】

SLN に対して電気刺激を加えると、刺激反応性に呼吸活動と異なった活動を認めた。本活動出現時には横隔神経から記録される呼吸活動は抑制され、さらに複数の嚥下関連筋群活動を同時記録すると、嚥下活動と矛盾しない筋活動のシーケンスを認めた。上記結果より、WHBP から得られた SLN 刺激反応性の活動は、嚥下活動であることが確認された。

【結論】

WHBP は嚥下活動を形成する神経ネットワークを保持しており、同活動の中樞神経機構の解析に有用であると考えられた。

(16:05 ~ 16:15)

4) 口腔扁平苔癬の免疫組織学的特徴について

阪大院歯
 顎口腔病因病態制御学講座
 (口腔病理学教室)¹
 阪大歯病
 検査部²

 ○大下 康子¹
 岸野 万伸²
 宇佐美 悠²
 佐藤 淳¹
 小川 裕三¹
 豊澤 悟¹

【目的】

口腔扁平苔癬は原因不明の慢性炎症性疾患であり、典型的な臨床像としては両側頬粘膜のレース状白斑が挙げられる。病理組織像としては、上皮直下への帯状リンパ球浸潤、上皮の角化亢進、鋸歯状上皮脚、基底層の液化変性などが認められる。病変に浸潤するリンパ球はT細胞が主体であり、上皮細胞におけるICAM-1と、MHC-class II発現や、上皮層内のランゲルハンス細胞の活性化が、Tリンパ球浸潤を誘導して病変の進行に関与すると考えられている。本研究では、口腔扁平苔癬の診断基準を明確にするために、臨床所見および、病理組織所見ともに典型像を示す症例を選択して、口腔扁平苔癬の免疫組織化学的な特徴を検討した。

【材料と方法】

臨床および病理組織の両所見ともに典型像を示す口腔扁平苔癬 33 症例を抽出し、免疫組織化学的染色を行った。臨床的に両側頬粘膜のレース状白斑を呈して口腔扁平苔癬と臨床診断され、組織学的に上皮直下への帯状リンパ球浸潤と、上皮基底層の液化変性が認められて口腔扁平苔癬と矛盾しない組織標本を選択した。各症例のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから連続切片を作製し、免疫組織化学的染色を行った。染色には、CD1a、CD3、CD4、CD8、CD20、CD54(ICAM-1)、CD56、CD68、CD79a、HLA-D、CD207(Langerin) に対する抗体を用いて特徴的な所見をまとめ、CD207(Langerin)については上皮内に認められる陽性細胞数を正常頬粘膜標本 20 例と比較検討した。

【結果および考察】

本研究で選択した口腔扁平苔癬の主な免疫組織学的特徴は、上皮直下に見られるリンパ球の多くはT細胞で、CD8陽性T細胞がCD4陽性T細胞に比較して優位に浸潤していた。特に上皮と上皮結合組織との境界部付近から上皮内にかけて浸潤する細胞の大部分はCD8陽性T細胞であった。上皮層では、MHC-class II発現を示すHLA-D陽性細胞が部分的に認められたが、リンパ球接着やアポトーシスに関与するとされているICAM-1陽性所見は認められなかった。また、正常頬粘膜と比較して上皮内にLangerin陽性を示すランゲルハンス細胞の増加傾向が認められた。これらの免疫組織化学的特徴は他の粘膜疾患と比較することにより、今後、口腔扁平苔癬の鑑別診断に役立つことが期待される。

5) 外科的矯正治療を施行した骨格性反対咬合を伴う片側性唇顎口蓋裂の二症例 — 三次元顔画像評価を加えて

阪大院歯
口腔分化発育情報学講座
(顎顔面口腔矯正学教室)

○新宅 優子
谷川 千尋
高田 健治

【目的】

顎顔面部の形態的な歪みが社会心理学的な問題を引き起こすことがあり、近年、矯正歯科治療の目的として、咬合の確立に加え、より良い顔貌の獲得が重要視されている。今回、骨格性3級に伴う前歯部反対咬合を認める片側性唇顎口蓋裂患者二名に対して外科的矯正治療を施行し良好な咬合状態が得られたので、治療前後の顔面軟組織形態の三次元的評価を加えて報告する。

【方法】

(症例1) 患者は第二期治療開始時16歳3か月の左側唇顎口蓋裂の女性であり、上顎骨後方位に伴う骨格性3級を呈し overjet -5.6mm、overbite +2.9mmであった。(症例2) 患者は第二期治療開始時18歳0か月の左側唇顎口蓋裂の男性であり、上顎骨後方位に伴う骨格性3級を呈し overjet -0.5mm、overbite 0mmであった。いずれの症例も受け口を主訴とし、小児期に鼻咽腔閉鎖機能不全による構音障害の既往があった。患側・健側ともに上唇は平坦な形態を呈し、下赤唇の翻転を認めた。この二症例に対し、術前矯正治療後、下顎枝矢状分割骨切り術による下顎骨後方移動を行い、上下顎骨の相対的位置関係および咬合関係を改善した。術式決定の際には、鼻咽腔閉鎖機能不全再発のリスクを考慮し上顎骨前方移動は選択しなかった。治療前後に非接触型三次元デジタルカメラを用いて安静時の顔画像を撮影し、治療前後の顔面軟組織形態およびその変化を評価した(Takadaら, 2012)。

【結果】

保定24か月後、二症例ともに良好な咬合状態が得られ構音障害を認めなかった。治療後、健側の下赤唇の翻転は改善したが、患側および顔の正中の下赤唇の翻転は改善しなかった。治療前後の顔面軟組織形態の重ね合わせを行ったところ、治療前と比較して治療後、下唇部・オトガイ部のみならず上唇部・頬部を含む中下顔面全体の軟組織の後退を認めた。また、その後退の範囲については健側と比較して患側で大きく、上唇の瘢痕が外科的矯正治療による軟組織の移動の様相に影響を与えることが推測された。

【考察】

下赤唇の翻転の原因として、口唇形成術に起因した上唇の瘢痕および上唇の組織不足により上赤唇が薄くなり、患側の下赤唇が上赤唇からの垂直的な圧力を受けないために厚い形状を示すものと推測される。本報告における二症例ともに、良好な咬合状態が得られた後も、患側および顔の正中における下赤唇の翻転は改善しなかったことから、下赤唇の翻転の改善のために上唇への組織移植あるいは上赤唇の緊張を減じる手術の必要性が示唆された。また、外科的矯正治療に伴う顔面軟組織形態の変化において、上唇の瘢痕の影響は中下顔面全体に及ぶことが示唆された。上記より、片側性唇顎口蓋裂を有する患者では、治療前に顔面軟組織形態を三次元的に評価し、上唇の瘢痕の程度や左右差を考慮した上で、外科的矯正治療の計画を立案することが重要であると考えられた。

(16:25 ~ 16:35)

6) 当科における口唇裂・口蓋裂症例の臨床的検討

阪大院歯
顎口腔病因病態制御学講座
(口腔外科学第一教室)

○田中 輝
應谷 昌隆
山西 整
森本 泰成
辻 忠孝
青海 哲也
大槻 浩一
木田 久美子
磯村 恵美子
石濱 孝二
古郷 幹彦

【目的・対象】

口唇裂・口蓋裂は400-600人に1人の割合で発生する発生率の高い先天性疾患である。今回、当科を受診した口唇裂・口蓋裂1次症例患者1362名を対象に、疫学的調査を行ったため報告する。

【方法】

外来・入院カルテに基づいて集計した。1) 裂型別分類、2) 破裂部側性別分類、3) 裂型別家系内発現率頻度、4) 裂型別合併症発現頻度、5) 観察された合併症の種類と症例数、6) 症候群と診断された種類と症例数、7) 染色体異常と診断された種類と症例数、について調査を行った。

【結果】

総症例数1362例中、唇(顎)裂396例(29.1%)、口唇口蓋裂583例(42.8%)、口蓋裂372例(27.3%)であり、口唇口蓋裂、唇(顎)裂、口蓋裂の順に多かった。粘膜下口蓋裂は72例(5.3%)であり、単独症例が多かった。性差は男性742例(54.5%)、女性620例(45.5%)で男女比は1.2:1であった。粘膜下口蓋裂では男性40例(2.9%)、女性32例(2.3%)で男女比は1.3:1であった。破裂部側性は片側性760例(77.6%)、両側性219例(22.4%)であり、片側性に多く、その内訳は右側260例(26.6%)、左側500例(51.1%)で左側に多かった。性差は男性588例(60.1%)、女性391例(39.9%)で男女比は1.5:1であった。全体の8.1%(110例、98家系)に家系内発現を認めた。全身合併症を有する症例は全体の25.8%に認めた。口蓋裂単独症例(n=372)における合併症発症頻度は40.3%であり、裂型別にみると、最も合併症発症頻度は高かった。合併症では先天性心疾患が最も多く次いで小顎症、精神発達遅滞、舌小帯短縮症、副耳、耳介低位、先天性難聴、耳介形成異常、停留精巣、臍帯ヘルニアの順に発現数が多かった。症候群の症例ではRobin sequenceが最も高く3.6%の発現頻度であり、症候群のうちほぼ半数を占めた。染色体異常は全体の2.7%に認め13trisomyが最も多く、次いで22.q11.2欠失が多かった。

休憩 (16:35 ~ 16:40)

【大学院活動成果報告】(16:40～17:10)

平成23年度 大阪大学歯学会 優秀海外発表大学院生奨励賞受賞講演

..... 司会：：由良 義明
(16:40～16:55)

7) 優秀海外発表大学院生奨励賞を受賞して

阪大院歯
顎口腔病態制御学講座
(口腔外科学第一教室)
頭蓋顎顔面発生発育機構学講座
(大阪府立母子保健総合
医療センター
研究所 環境影響部門)

宮川 和晃

このたび、歯学会より2011年9月にSan Diegoにて開催されたASBMR (The American Society for Bone and Mineral Research) 2011 Annual Meetingにおいてポスター発表した”1,25(OH)₂D and PTH Up-regulate *Rankl* while Down-Regulate *Phex* and *Dmp1* in Primary Osteocytes Isolated from *Hyp* and Wild-type Mouse” に対して、海外優秀発表大学院奨励賞を頂きました。このような賞を頂いたことを非常に光栄に思うと共に、選考していただいた選考委員の皆様へ感謝申し上げます。

本発表はX連鎖性低リン血症性くる病のマウスモデルである *Hyp* マウスから単離した初代骨細胞の詳細な遺伝子発現解析により、骨細胞におけるリン代謝関連分子群の相互関係を明らかにし、さらに、骨細胞におけるリン代謝に関わる因子の直接作用を検討いたしました。マウスからの初代骨細胞の単離・培養法はいずれもリン代謝研究には不十分で、その確立には幾多の困難を伴いました。特に、骨細胞としての性質を維持させた状態での培養法の確立には多くのマウスを犠牲にいたしました。

培養法の結果がどうか抄録提出期限に間に合い、後日 President's Poster Competition Award にノミネートされたメールを受け取りました。実は、昨年も同賞にノミネートされましたが残念ながら受賞を逃したという苦い経験があり、今回は前回の反省点を生かせるリベンジの機会でした。私の稚拙な文章力と英語力のため、道上先生に何度もご迷惑をかけた末に米国に渡る数時間前にポスターを刷り上げることが出来ました。しかし、審査当日は審査員よりも一般のギャラリーからの質問が多く、私はそれを答えるのに必死で、いつ審査されたのかわからない状態で終わったのを覚えています。学会最終日に受賞を知らされましたが、それよりも多くの研究者に私の研究成果を評価して貰えた事が嬉しかったです。抄録内容よりも良い結果を発表することを目標に行った発表までの5か月間は、これまでの研究生活の中で最も充実しておりました。

最後に、本研究の機会を与えてくださった口腔外科第一教室の古郷教授、そして、直接ご指導下さっている道上教授に厚く御礼申し上げます。

学会名：The American Society for Bone and Mineral Research (アメリカ骨代謝学会) 2011 Annual Meeting
開催地：San Diego, California, USA

(16:55～17:10)

8) 優秀海外発表大学院生奨励賞を受賞して

阪大院歯
顎口腔機能再建学講座
(歯科補綴学第二教室)
口腔分子免疫制御学講座
(生化学教室)

高島 利加子

この度歯学会より2011年9月にオーストラリアで開催されたIOF Regionals 2nd Asia-Pacific Osteoporosis and Bone Meetingにおいて発表した「The transcription factor *Arid5b* modulates endochondral bone formation in cooperation with *Sox9*」に対して優秀海外発表大学院奨励賞を頂きました。このような賞を頂いたことを非常に光栄に思うとともに指導して頂いた先生方、選考して頂いた選考委員会の皆様へ感謝申し上げます。

今回の発表では、骨格形成において重要な役割を果たす軟骨細胞の、分化に関与する新規の転写因子 *Arid5b* の同定およびその役割について報告しました。

初めての海外発表、そして口演発表ということで、スライドづくり、英語での言い回しなど、生化学教室の米田教授、西村准教授、波多講師に大変助けて頂きましたが、準備期間中は不安と闘う毎日でした。オーストラリアに向けて日本を出発する日は台風で飛行機が飛ばかわからない状況でもあり、波乱の幕開けでした。学会会場については英語に耳を慣らそうと必至に他の演者の発表や質疑応答を聞いていました。幸い私の発表の座長が米田先生のお知り合いということもあり、発表直前に座長とあいさつをすることができました。とても気さくな方で、リラックスして発表に挑むことができました。

また、IOF Young Investigator Awardを受賞することもでき、私にとってとても思い出深い、また貴重な体験ができた学会発表となりました。

最後になりましたが、本研究の機会を与えて頂いた歯科補綴学第二教室の前田教授に感謝致しますとともに、研究、発表においてご指導頂きました米田教授、西村准教授、波多講師、共同研究者の方々に厚く御礼申し上げます。

学会名：IOF Regionals 2nd Asia-Pacific Osteoporosis and Bone Meeting
開催地：Gold Coast, Australia

休憩 (17:10～17:15)

【受賞講演】平成 23 年度 大阪大学歯学会 優秀研究奨励賞 受賞講演 (17:25 ~ 17:55)

..... 司会：脇坂 聡
(17:25 ~ 17:40)

9) 「Antibiofilm Effects of Azithromycin and Erythromycin on *Porphyromonas gingivalis*」

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)

○前 菌 葉月、野村由一郎

Porphyromonas gingivalis は、ヒトの歯肉縁下バイオフィーム全域に分布し辺縁性歯周炎の進行に強く関わるほか、根尖孔外バイオフィームからも高い頻度で検出され根尖性歯周炎の難治化にも関与する。一般的にバイオフィーム細菌は抗菌薬に抵抗性を示すが、マクロライド系抗菌薬であるアジスロマイシン (AZM) は、インフルエンザ菌や緑膿菌に対し最小発育阻止濃度 (MIC) 以下の濃度 (sub-MIC) でクオラムセンシングを攪乱することが近年報告され、また、バイオフィーム形成の一部はクオラムセンシングサーキットにより制御されていることが明らかにされた。本研究では、AZM を含む 3 種類の抗菌薬が 4 菌株の *P. gingivalis* バイオフィームに及ぼす影響を、sub-MIC を含めた各種濃度において検討した。

静置系バイオフィームモデルでは、AZM は供試した全ての菌株において、また同じマクロライド系抗菌薬であるエリスロマイシン (EM) は W83 株を除く 3 菌株において、sub-MIC でバイオフィームの有意な抑制を認め、GM は全菌株において抑制効果を示さなかった。フローセル系バイオフィームモデルでは、供試した全菌株に対し、AZM のみが sub-MIC で有意に抑制効果を示した。共焦点レーザー顕微鏡を用いたフローセル系バイオフィームの 3 次元的観察では、抗菌薬非添加の対照群は大部分が生菌で構成された 20-60 μm 程度の厚みを示すバイオフィームが観察されたのに対し、AZM 添加群のバイオフィームは、その厚みが減少し、1 および 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加群ではバイオフィーム中の生菌がほぼ消失している像が観察された。また、sub-MIC の AZM 添加により、抗菌薬非添加の対照群と比較し、*P. gingivalis* バイオフィーム遊離細胞に耐性の獲得は認められなかった。

静置系および MRD を用いたフローセル系の 2 つのバイオフィーム系において、4 種の *P. gingivalis* 菌株が形成するバイオフィームに対する各種抗菌薬の影響について検討したところ、AZM は静置系およびフローセル系の両系において *P. gingivalis* バイオフィームを sub-MIC で有意に抑制した。この sub-MIC における AZM のバイオフィーム抑制メカニズムは現時点では不明であるが、バイオフィーム細菌のクオラムセンシングに作用し、ディタッチメントを促進したことや、マトリックスの破壊に影響した結果 *P. gingivalis* バイオフィームを抑制した可能性などが考察される。

本研究より、静置およびフローセル系で作製した 4 菌株の *P. gingivalis* バイオフィームに対し、AZM が sub-MIC で抑制効果を示し、抗バイオフィーム作用を有することが明らかとなり、口腔バイオフィーム感染症に対する AZM の新規使用法の可能性が示された。

(17:40 ~ 17:55)

10) [Hydrogel-based biomimetic environment for *in vitro* modulation of branching morphogenesis]

大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座 (歯科理工学教室)¹

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体材料学分野²

○宮嶋 宏行¹、松本 卓也^{1,2}

唾液腺は、器官形態形成の過程において上皮細胞の集合塊が分岐を繰り返し、上皮一問葉組織間の相互作用により三次元枝状組織として構築される。こういった複雑な形態形成には増殖因子やサイトカインなどの化学的因子が重要な働きをすることが知られているが、近年、周囲の堅さなどの物理的環境が細胞の増殖や分化を制御することが報告され、注目されている。そこで本研究では、筋肉や下顎骨など異なる種類の組織で囲まれる唾液腺の発生と成長が周囲の堅さ環境によって影響を受けるという仮説を立て、*in vitro* 系の実験でその検証を行った。

まず、生体親和性ハイドロゲルを用いて、器官培養を行うにあたっての唾液腺周囲の堅さ環境の再現を試み、アルミナプレートによるモールドを使用することで、異なる弾性率を有するシート状アルジネートゲルの作製に成功した。続いて、構築した堅さの異なるゲル上でマウス唾液腺器官培養を行い、分岐形態形成の状態を詳細に検索するとともに、増殖因子の発現および細胞牽引力との関連性について検討を行った。その結果、弾性率の小さな柔らかいゲル上では分岐形態形成が促進され、堅いゲル上では逆に抑制されること、および、堅さの違いに応じて FGF7 と FGF10 の遺伝子発現が変化することが分かった。さらに、これらの発現変化には唾液腺間葉細胞の変形に起因する細胞牽引力が関与することが明らかとなり、仮説が正しいことが立証された。

本研究は、生体親和性ゲル上での器官培養により、唾液腺の分岐形態形成が周囲の堅さ環境によって制御されていることを示した初めてのものである。今回われわれが考案したこの手法は、唾液腺以外の他の組織の培養にも応用が可能であり、歯を含めたさまざまな口腔組織の発生・成長メカニズムの解明に有用であると期待できる。

研究の遂行にあたり、ご指導ご支援をいただきました先生方ならびに歯科理工学教室の教室員各位にこの場をお借りして厚く御礼申し上げます。

【一般演題】 (17:55 ~ 18:05)

(17:55 ~ 18:05)

11) mTOR 結合タンパク質 PIH1D1 が rRNA 転写に及ぼす影響

阪大歯
(4年次学生)¹
阪大院歯
顎口腔病因病態制御学講座
(薬理学教室)²
顎口腔機能再建学講座
(歯科補綴学第一教室)³

○外園 真規¹
杉本亜莉沙¹
佐伯万騎男²
江草 宏³
上崎 善規²

【目的】

我々は Monad のターゲットとして R2TP 複合体を見出したが、R2TP 複合体の機能は不明な点が多い。R2TP 複合体の構成成分のひとつである PIH1D1 はがん細胞で特異的に発現しており、mTOR に結合してその安定化に働くことが報告されている。mTOR 経路はタンパク質合成の調節に中心的な役割を果たし、多くのヒトがんで活性化されている。我々は、PIH1D1 が mTOR 経路を介してタンパク質合成を調節しているのではないかと考えた。

【方法】

HEK293 細胞を用い、リボソーム RNA (rRNA) 転写を 28S、5.8S、18S rRNA の前駆体 (pre-rRNA) の定量 PCR により測定した。また、Akt の 473 番目のセリンのリン酸化はウエスタンブロッティングにより検出した。

【結果および考察】

HEK293 細胞に血清処置をしたところ、R2TP 複合体の構成成分のうちで PIH1D1 のみ発現が上昇した。PIH1D1 は核小体に局在していることが知られており、核小体は rRNA が転写される場であることから、PIH1D1 が rRNA の転写に及ぼす影響を検討した。HEK293 細胞において、PIH1D1 の siRNA 処置は pre-rRNA 転写を抑制した。mTOR 経路は Akt のリン酸化が重要な制御経路であるが、PIH1D1 の siRNA 処置により Akt の 473 番目のセリンのリン酸化が抑制された。以上の結果から PIH1D1 は mTOR 経路に促進的に働くことで rRNA 転写を調節していることが示唆された。がん細胞は核小体が異常に大きく、タンパク合成が亢進していることは古くから知られているが、がん細胞のみに発現している PIH1D1 がこの現象に関わっている可能性があり、創薬のターゲットとしても期待される。

休 憩 (18:05 ~ 18:10)

(18:10 ~ 18:40)

12) 「オートファジーによる病原菌捕獲の仕組み」

大阪大学大学院歯学研究科 口腔科学フロンティアセンター

野田 健司

タコが空腹時に自分の足を食べていきのびるとの逸話のように (実際にはそのようなことは無いようです)、細胞も栄養が絶たれると自分を食べて生き延びる。この現象オートファジーは、細胞質基質を非選択的にとらえ分解をする。これまで私たちは、酵母細胞でもオートファジーが起こるという発見を契機として、その極めて独特な分子機構の解明に成功してきた。ところが最近、オートファジーには特異的な基質を分解する役割もあることが明らかになりつつある。特に哺乳類の上皮細胞など非貪食性細胞に侵入した病原菌などが、オートファジーによって捉えられることが近年明らかとなっている。たとえばオートファジーが不能である宿主細胞に感染したサルモネラ菌は、細胞内で爆発的に増殖し宿主を死に至らしめる。いかにして病原菌がオートファジーの機構により認識されるかは、諸説あるものの、詳細は不明であったと考えている。

私たちの解析の結果、宿主細胞由来の膜構造 Salmonella Containing Vacuole に含まれている状態のサルモネラ菌をオートファゴソームが取り囲むことが判明した。これまで他の研究グループでは、病原菌にユビキチンなどがつくると宿主細胞の受容体が認識し、受容体が LC3 をリクルートするというモデルが唱えられてきているが、それとは異なり、LC3 が機能しない状態でも、オートファゴソームは病原菌の周囲にリクルートされていた。一方、オートファゴソーム膜ができない変異株でも、LC3 は Salmonella Containing Vacuole のまわりにリクルートされてきた。このことから、オートファゴソーム膜の存在とは独立して、LC3 をリクルートする機構の存在が示唆される。これらの機構の実態について、最近の進展を紹介したい。

13) 「歯科保存学の未来への扉を開く」

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)

林 美加子

臨床歯科医学においてう蝕学・保存修復学・歯内療法学は基本となる学問であり、今後も重要な分野に位置づけられると考えています。この度、歯科保存学教室を主宰するにあたり、今回の特別講演では私自身が取り組んできた「歯の強化法の開発」の研究成果を総括してご紹介するとともに、これまでに歯科保存学教室が幅広く展開してきた活動を基盤として、今後、教室が取り組む研究活動の方向を「歯科保存学の未来への扉を開く」と題してお話したいと考えています。

ライフサイエンス分野の基礎研究成果の臨床への還元は国家的課題といわれています。我々は、歯科臨床での問題である歯の破折を防止すべく、これまでに *in vitro* 研究として国内・国際特許を申請・取得しながら「物理刺激による象牙質強化」に関する研究を展開してきました。今回は、熱および紫外線によって歯が強化されるメカニズムを解説しつつ、*in vitro* 研究の成果を革新的医療機器の創出へと発展させ、歯の破折防止のための新規治療法として臨床に還元する方策をお話したいと考えています。

次に、歯学部附属病院において保存科では、特に一般臨床医から紹介の多い難治性根尖性歯周炎に対して、歯科用顕微鏡およびCT画像診断を駆使した歯内療法を実施することによって、より確実な治癒をめざすとともに、2011年から先進医療「X線CT画像診断に基づく手術用顕微鏡を用いた歯根端切除手術」を導入し高度な医療を展開しています。このような背景と実績にもかかわらず、臨床では依然として完全な治癒には至らない難治化した根尖性歯周炎への対応に苦慮する場面があります。そこで、そのような難症例に歯科保存学教室で展開してきた多方面にわたる先端的研究成果を適応することによって、従来の歯内療法の枠組みを超えて難治性根尖性歯周炎を克服したいと考えています。

ここでは、根尖性歯周炎が難治化する原因ともいべきオーラルバイオフィームの実態の解明、根尖病巣が急速に拡大する宿主側因子の解明、そして、修復に際しては象牙質自体の強化と組織再生能力に優れた修復材料の適用が挙げられます。近未来には、根尖病巣が拡大した骨欠損部に対して、教室ですでに開発が進みつつある骨再生能力に優れた未分化間葉系細胞を応用することを想定しており、新しい先進医療への採択を視野に入れた「難治性根尖性歯周炎への骨再生細胞治療」へと発展させたいと考えています。一方で、難治性根尖性歯周炎に陥らないために、歯髄保存の機会を最大限に広げるべく歯髄再生療法の取り組みも進みつつあり、これらは歯内療法分野に大きなインパクトを与える包括的プロジェクトであるといえます。

本プロジェクトの実現のために、現教室のポテンシャルを最大限に引き出し、教室が一丸となって長期的に取り組むプロジェクトに育て上げたいと考えており、まさに歯科保存学の未来への扉の前に立っていると実感しています。

MEMO.....

..... •MEMO

MEMO.....