

-大学院歯学独立研究科-
第 109 回 大学院 研究科 発表会 プログラム
第 123 回 中間 発表会 プログラム

大学院学生等が、これまでの研究成果を発表します。
どなたでも聴講できますので、多数の参加をお待ちしております (聴講申込不要)

場 所：実習館 2 階 総合歯科医学研究所セミナー室

日 時：2023 年 1 月 25 日 (水) 17 時 25 分 開会

-2023 年 1 月 25 日 (水) -

No.	発表区分・予定時間	演題名・発表者	審査委員
	17:25	開会挨拶 平岡研究科長	
1	[大学院] 17:30~18:00 司会:十川 教授	「抜歯後組織修復における金属結合タンパク質メタロチオネイン-1/-2 の関与」 西田 優花 硬組織疾患制御再建学講座 遺伝子工学・分子創薬学	主査:平岡特任教授 副査:芳澤教授 :山下准教授
2	[中 間] 18:00~18:30 司会:金銅 教授	「神経損傷後の延髄マイクログリア活性化領域と痛覚線維投射領域の 比較」 上田 敬介 顎口腔機能制御学講座 生体調節制御学	主査:十川教授 副査:倉澤特任教授 :大須賀教授

発表内容の要旨(課程博士)
Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)

学籍番号 Student ID No.	ID#G 1907	入学年 Entrance Year	2019	年 Year
(ふりがな)	にしだ ゆか			
氏名 Name in Full	西田 優花			
専攻分野 Major Field	遺伝子工学・分子創薬学			
主指導教員 Chief Academic Advisor	十川 紀夫			
発表会区分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation /The Matsumoto Dental University Society			
演題名 / Title of Presentation				
拔牙後組織修復における金属結合タンパク質メタロチオネイン-1/2 の関与				
発表要旨 / Abstract				
<p>【目的】 メタロチオネイン(MT)は、多様な刺激により誘導される低分子量の金属結合タンパク質である。分子内に豊富に存在するチオール基を介した作用により、亜鉛や銅などの必須微量元素恒常性維持や抗酸化作用を示すことが報告されているが、皮膚の創傷治癒時にも誘導されることから、細胞増殖や創傷治癒への関与も示唆されている。しかし、MT が創傷治癒に関わる機序の詳細は未だ明確になっていない。 ところで、歯科診療において拔牙は通常処置の1つであるが、拔牙窩では上皮組織再生が進行しており、皮膚創傷治癒時と同様、拔牙窩での組織修復にも MT の関与が想定される。しかし、MT と拔牙後組織修復との関連については未だ報告がない。したがって、本研究では、MT-1/2 欠損マウス(以下、MT 欠損マウス)と野生型マウスを用い、拔牙後組織修復における MT-1/2 の関与について検討した。</p> <p>【方法】 まず、野生型マウスを用いて拔牙後組織修復時の MT 局在を検討した。拔牙は雄性、28 日齢マウスの上顎右側第一臼歯で行い、0, 3, 5, 7 日後に上顎骨を採取した。その後、上顎骨の脱灰パラフィン包埋切片を作成し、組織学的評価 (HE 染色, 組織化学染色 [抗 Ki-67 抗体, 抗 MT 抗体]) を行なった。 次いで、野生型および MT 欠損マウスを用いて、同様の拔牙処置および上顎骨採取を行い、上皮組織再生と拔牙窩骨新生の差異を検討した。上皮組織再生は創傷面積で評価し、拔牙部位の実体顕微鏡画像を NIH ImageJ で測定した。また、拔牙窩骨新生は、拔牙根部 (近・遠心頬側根, 口蓋根) の骨密度 (新生骨体積/根相当部体積, %) で評価し、μCT 画像を解析することにより算出した。 さらに、MT 欠損マウスにおいて拔牙前日より 4 日間、α-トコフェロールを腹腔内投与し、拔牙 3 日後の拔牙窩上皮組織再生に対する影響を検討した。</p> <p>【結果】 再生上皮における MT 局在は Ki-67 と比べて広範囲であったが、共に再生上皮基底細胞に発現し、発現領域は近似していた。また、創傷面積は、両系統マウス共に拔牙後経時的に減少したが、拔牙 3, 7 日後における MT 欠損マウスの創傷面積は、野生型マウスに比べて有意に高値であった。なお、MT 欠損マウスにおける拔牙 3 日後の α-トコフェロール投与群の創傷面積は、対照群と比較し有意に低値であった。 一方、拔牙根部の骨密度は経時的に増加したが、拔牙 3, 5, 7 日後において MT 欠損マウスで骨密度が低値となる傾向があったものの、野生型マウスとの間に有意な差は認められなかった。</p> <p>【結論】 MT 欠損マウスでは拔牙後の上皮組織再生は遅延した。また、この遅延に MT-1/2 欠損による抗酸化作用の欠失が関与している可能性が示唆された。</p>				

発表内容の要旨（課程博士）

Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)

学籍番号 Student ID No.	ID # G 1807	入学年 Entrance Year	2018 年 Year
(ふりがな)	うえだ	けいすけ	
氏名 Name in Full	上田	敬介	
専攻分野 Major Field	生体制御調節学		
主指導教員 Chief Academic Advisor	金銅	英二	
発表会区分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 <small>Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society</small>		
演題名 / Title of Presentation			
神経損傷後の延髄マイクログリア活性化領域と痛覚線維投射領域の比較			
発表要旨 / Abstract			
<p>【目的】 下歯槽神経切断モデルラットでは、三叉神経第Ⅲ枝下顎神経の枝である下歯槽神経を切断することで、損傷していない第Ⅱ枝である上顎神経支配領域にアロディニアが発症するが、その発症率はほぼ半分である。臨床現場においても神経損傷後にアロディニアや痛覚過敏などを発症する症例と発症しない症例に遭遇する。神経損傷に伴うアロディニア発症には、損傷した神経の中樞投射領域のマイクログリア活性化が深く関与しているといわれている。本研究では、ラット下歯槽神経切断処置後、上顎神経支配領域におけるアロディニア発症とマイクログリア活性化の関連を調べるために延髄における活性化マイクログリアの分布を解析した。</p> <p>【方法】 延髄への三叉神経各枝の投射領域を明確にするために、SD 雄性ラットの第Ⅰ枝、第Ⅱ枝、第Ⅲ枝の各領域にカプサイシンを投与した。3時間後に延髄を摘出し、脊髄から延髄にかけての連続切片を抗fos抗体にて免疫染色を行い観察した。 SD 雄性ラットの下歯槽神経を切断し、術後一週間にわたってvon Frey filament を用いて上顎神経支配領域である口髭部の機械刺激逃避閾値を測定し、アロディニアの発症群と非発症群に分けた。これら両群の動物に灌流固定を行い、延髄組織を摘出し、連続切片組織標本を作成した。さらに、組織標本に抗CD11b 抗体の免疫染色を行いマイクログリアの数と局在を詳細に比較・分析した。</p> <p>【結果】 fos 陽性神経細胞の観察より、三叉神経の各投射領域は背側から腹側にかけて第Ⅲ枝、第Ⅱ枝、第Ⅰ枝と並んでいることが確認できた。これらのデータを基にマイクログリア活性を解析したところ、下歯槽神経切断後のマイクログリアの活性化は延髄後角の吻尾方向全域で確認されたが、それは三叉神経第三枝投射領域である背側部付近に限局されていた。さらに、このマイクログリア活性化の差を、上顎神経支配領域である口髭部のアロディニア発症群、非発症群で詳細に比較した。マイクログリア活性化の総数と吻尾方向の分布において大きな差異は認められなかったが、背側方向においてはアロディニア発症群において活性化マイクログリアの集団がやや腹側、第Ⅱ枝投射領域付近に局在していた。</p> <p>【考察】 下歯槽神経切断後に眼窩下神経支配領域に生じるアロディニアの発症群では非発症群と比較すると、延髄第Ⅱ枝投射領域付近でマイクログリアの活性化が認められた。これにより末梢第Ⅱ枝支配領域でのアロディニア発症は第Ⅱ枝投射領域でのマイクログリアの活性化が、関与していることが明らかになった。神経損傷後の脊髄マイクログリアの活性化に関しては、損傷神経が分泌するCSF-1やCCL2、もしくはアストロサイトの活性化等の影響が知られている。本研究にて観察されたアロディニア発症群と非発症群における差異が、これらの因子のどれに起因するものであるのか、について検証することが今後の課題であると考えられる。</p>			