

-大学院歯学独立研究科-

第 128 回 大学院 研究科 発表会 プログラム
第 143 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：2025 年 11 月 26 日 (水) 17 時 25 分 開会

—2025 年 11 月 26 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:村上 教授	「Transcriptomic Response to Compressive Force Simulating Orthodontic Tooth Movement in Cultured Porcine Epithelial Cell Rests of Malassez (歯列矯正による歯の移動を想定した加圧力に対する培養ブタマラッセ上皮遺残細胞のトランスクリプトーム応答)」 土居 洋介 硬組織疾患制御再建学 硬組織疾患病態解析学	主査:中道准教授 副査:中村浩彰 教授 :黒岩教授
2	[大学院] 18:00~18:30 司会:村上 教授	「Comparative Analysis of Wound-Healing Gene Expression in Cultured Gingival Fibroblasts Using Plasma Rich in Growth Factors and Platelet-Rich Plasma (Plasma Rich in Growth Factors と Platelet-Rich Plasma の培養歯肉線維芽細胞における創傷治療に係わる遺伝子発現の検討)」 樋口 琢善 硬組織疾患制御再建学 硬組織疾患病態解析学	主査:吉成教授 副査:宇田川教授 :川原一郎 教授
3	[中 間] 18:30~19:00 司会:芳澤 教授	「間葉系幹細胞スフェロイドが移植歯の歯周組織再生に及ぼす影響」 文 竹 硬組織疾患制御再建学 硬組織発生・再生工学	主査:山下教授 副査:小林教授 :田口教授
4	[中 間] 19:00~19:30 司会:影山 教授	「骨格性下顎前突者の随意的口唇閉鎖力について (Voluntary lip closure force in skeletal mandibular protrusion)」 張 璐瑶 硬組織疾患制御再建学 臨床病態評価学	主査:大須賀教授 副査:北川教授 :谷山准教授

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. (ふりがな)	ID # G 2212	入 学 年 Entrance Year	2022 年 Year
氏 名 Name in Full	土居 洋介		
専 攻 分 野 Major Field	硬組織疾患病態解析学		
主 指 導 教 員 Chief Academic Advisor	村上 聡		
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			
メカニカルストレス下における培養マラッセ上皮遺残細胞遺伝子発現の網羅的解析とタンパク質発現の検討			
発表要旨 / Abstract			
【緒 言】 歯列矯正治療において歯の移動時には歯根膜の幅が一定に維持されている。この恒常性の維持には、歯根膜に存在するマラッセ上皮遺残（ERM）が関与している。具体的には ERM が歯根膜において歯槽骨の代謝およびセメント修復に寄与することが報告されている。歯根膜の恒常性の破綻を引き起こす原因として微生物による感染やメカニカルストレスがある。先行研究では、ERM に LPS による細菌由来の炎症性刺激を加えることで、サイトカインの過剰発現を生じる (Fang Liu, 2001)。その結果、ERM の増殖 (Takada H, 1991) と骨破壊を誘導し (Roodman GD, 1992)、歯根嚢胞の形成・拡大に関与することが示唆された。メカニカルストレス下でも恒常性が破綻すると、炎症性歯根吸収や骨置換性歯根吸収が生じる。このような歯根吸収を示す病態が歯列矯正治療中に発症することは避けるべきである。 しかしながら、メカニカルストレス下で ERM がどのように歯根膜の恒常性を維持しているのかについての全貌は未だ明らかにされていない。そこで本研究ではメカニカルストレス下における ERM の遺伝子発現を網羅的に解析することによって、恒常性維持に関与する遺伝子群およびタンパク質群を検討する。 【材料と方法】 本研究ではブタ歯根膜由来の ERM を用いた（北海道医療大学 安彦善裕教授より供与）。ガラス板を用いて ERM を加圧し、炎症マーカー IL-6 mRNA (Yamashita E, 2024) およびストレスタンパク HSP70 mRNA (Masami Mitsuhashi, 2011) が有意に増加する条件を探索した。その結果、加圧条件を 4.0 g/cm²、12 時間とした。この条件は、圧迫側におけるやや過大な加圧力を想定した荷重である (Yamashita E, 2024)。 非加圧群および 4.0 g/cm²、12 時間で加圧した群から抽出した mRNA をもとに RNA シークエンスを行い、解析ツールを用いてパスウェイを含む後解析を行った。RNA シークエンスの結果をもとに絞り込んだ発現変動遺伝子群は定量 PCR を用いて再現性を確認した。タンパク質の定量にはサンプルウェスタン法、タンパクの局在には蛍光免疫染色を用いた。 【結 果】 パスウェイ解析の結果、加圧群における発現変動遺伝子群は TNF シグナル伝達経路、サイトカインおよびサイトカイン受容体 IL-17 シグナル伝達経路とウイルスタンパク質の相互作用、NF-κB シグナル伝達経路を含む 13 のパスウェイに統計的に有意な違いが認められた。これらの経路に共			

通して、BMP2、NFKBIA、CXCL8、CCL4、SOCS3 および FOS などの遺伝子が有意に発現上昇していた。BMP2 タンパク質レベルの上昇は認められたが、CXCL8 タンパク質レベルには有意な変化はみられず、NF- κ B タンパク質は核内移行を示さなかった。

【考 察】

メカニカルストレスが加わった ERM の細胞内では、FOS を介した TNF- α や IL-12 産生による破骨細胞の分化の促進と抑制(Kitaura H, 2020) (Yoshimatsu M, 2012)、SOCS3 を介したアモロチン分泌によるセメント質の再生(Tsvetalina Gerova-Vatsova, 2024)、細胞外では、CCL4 による血管新生の促進(Ishikawa K, 2012)、BMP2 による骨芽細胞および破骨細胞の分化促進(Okamoto M, 2006) や歯根膜のコラーゲン線維の増加 (Menglin Wang, 2023) によって、歯根膜の幅を一定に保ち、恒常性を維持する可能性が示唆された。

しかしながら、ERM に過度なメカニカルストレスが加わった場合、細胞内の NFKBIA による負のフィードバックにより NF- κ B の核内移行が抑制される(Ferreiro DU, 2010)。BMP2 タンパクが過剰に産生され細胞外に放出された際には、骨芽細胞の活性化による過度な骨形成と破骨細胞様の細胞の活性化による直接的な歯根表面の破壊を生じさせる (Miyaji H, 2006) ことが示唆された。

なお、CXCL8 遺伝子の発現増加が認められた一方で、タンパク質レベルの上昇は確認されなかった。この乖離は、過度なメカニカルストレスによる翻訳抑制が一因である可能性がある (Bai Y, 2016)(Yan M, 2023)。

【結 論】

メカニカルストレス下で ERM は BMP2 を産生することで歯根吸収と骨添加を制御し、歯根膜の恒常性を維持することが明らかとなった。また、CCL4、FOS、SOCS3 を産生することで歯根膜の幅を一定に保ち、恒常性を維持することが示唆された。

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 2213	入 学 年 Entrance Year	2022 年 Year
(ふりがな)	ひぐち たくよし		
氏 名 Name in Full	樋口 琢善		
専 攻 分 野 Major Field	硬組織疾患病態解析学		
主 指 導 教 員 Chief Academic Advisor	村上 聡		
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			
Plasma Rich in Growth Factors (PRGF®) と白血球を含む Platelet-Rich Plasma (L-PRP) の 培養歯肉線維芽細胞における創傷治癒に係わる遺伝子発現の比較検討			
発表要旨 / Abstract			
【背 景】 多血小板血漿 (Platelet-Rich Plasma ; PRP) とは自己血を遠心分離して得られる血小板を豊富に含んだ血漿の一部である。PRP は組織欠損部に投与することで、血小板由来の成長因子が高濃度で局所に作用し、組織再生や創傷治癒を促進させることから、褥瘡や熱傷の治療などに用いられている。PRP は血小板濃度の上昇が重視され、結果として白血球が混入する (R. E. Marx, 1998)。現在に至るまで術者によって様々な PRP 作成法が開発されてきたが、画一化はなされていない。Anitua らにより PRP 作成のための画一化された遠心分離方法 (ENDORET PRGF System®) が開発された。これにより赤血球、白血球および血小板を明確に相分離することが可能となった。このシステムにより作成された多血小板血漿は PRGF (Plasma Rich Growth Factors) と呼ばれ、高濃度の血小板濃度だけでなく、低濃度の白血球濃度を獲得することが可能といわれている (E. Anitua, 2012)。 PRGF は日本でも 2022 年に薬事承認され、創傷治癒促進の観点から歯槽骨を含む歯周組織の再生に盛んに応用されるようになってきている。近年 PRGF と PRP を添加した真皮線維芽細胞の遺伝子の網羅的解析により、創傷治癒を促進する遺伝子群が明らかとなった (E. Anitua, 2022)。しかしながら、歯周組織を構成する歯肉線維芽細胞における PRGF と白血球を多く含む PRP (L-PRP) の機能的遺伝子発現の違いは十分に解明されていない 先行研究によって真皮線維芽細胞と歯肉線維芽細胞の遺伝子発現プロファイルの類似性 (K. Ebisawa, 2011) や特定の種類のコラーゲンの発現時期の近似性 (Chaussain Miller C, 2002) が報告されている。これらの報告を踏まえ、今回我々は PRGF が L-PRP と比べて、特定の創傷治癒を促進し、細胞増殖や創面閉鎖率を司る遺伝子群の増加がみられるとの仮説を立てた。この仮説をもとに細胞培養実験にて歯肉線維芽細胞の増殖と創傷治癒に及ぼす影響を PRGF と L-PRP を比較しながら明らかにする (松本歯科大学倫理審査認証：許可番号 第 0363 号)。 【材料と方法】 多血小板血漿に含まれる血小板の濃度は性別および年齢に影響を受ける。したがって、血小板濃度のバラつきを小さくするため、ドナーの性別を男性に統一し、年齢差も 10 歳以内とした。上記のドナー 3 人の血液から、PRGF と L-PRP を個別に作成した。PRGF と L-PRP を作成後、可溶性物質 (成長因子やサイトカイン) のみを加えた培地添加用 PRGF と PRP を準備した (E. Anitua, 2018)。PRGF や PRP に含まれる白血球由来のインターロイキン 8 (IL-8) を ELISA にて定量した。ポジティブコントロール (歯肉線維芽細胞にとって最も高い細胞増殖を示すとされる濃度の成長因子やホルモンが含まれる培地) としてウシ胎仔血清 (FBS) を 10% 含有する完全培地を使用した。また、ネガティブコントロールとして FBS を除いた培地を用いた。セルブロック法と血球計算盤を使用して			

PRGF と L-PRP に含まれる血小板の有無と白血球濃度を評価した。PRGF および L-PRP 下で歯肉線維芽細胞を培養し、WST-1 による歯肉線維芽細胞の増殖を計測した。セルカルチャーインサートを用いて、細胞の増殖能だけでなく移動能も反映する創面閉鎖モデルを作成後、創面閉鎖率を計測した。先行研究 (Eduardo Anitua, 2022) にて PRGF 添加群において真皮線維芽細胞で有意な増加を示し、GO term として Wound Healing がタグづけられた III 型コラーゲン $\alpha 1$ (Col3 $\alpha 1$)、Decorin (DCN) および Inactive tyrosine- protein kinase 7 (PTK7) の mRNA 発現を定量的に比較した。

【結果と考察】

【多血小板血漿製剤における血球成分、IL-8 の定量結果】

PRGF と L-PRP の両者において Giemsa 陽性を示す多数の血小板様構造物が認められた。また、PRGF 中の白血球は L-PRP より有意に少なく、IL-8 も低い傾向を示した。

【細胞増殖】

細胞増殖の初期 1, 2 日目では PRGF および L-PRP は、ポジティブコントロールと同等の値を示した。3 日目には PRGF および L-PRP はポジティブコントロールよりも有意に高値を示した。特に L-PRP は PRGF と比して有意に高かった。この理由は、PRGF よりも L-PRP に有意に多く含有される PDGF (C. R. Irwin, 1994) や TGF- β (H. J. Chae, 2006) および IL-1 β (A. DuFour, 1993) が歯肉線維芽細胞の増殖に対してより促進的に作用したためであると考えられる。

また、歯肉上皮細胞では細胞増殖の初期 1, 2 日目において PRGF が L-PRP と比べて高い増殖を示すこと (Y. Watanabe, 2025) が知られており、PRGF や L-PRP などの多血小板血漿製剤は特に初期の増殖促進を伴う創傷治癒に寄与する可能性が考えられた。

細胞増殖の後期 7 日目では PRGF および L-PRP は、ポジティブコントロール比べて有意に低値であり、14 日目では低い傾向を示した。これらの結果より、PRGF や L-PRP は細胞増殖の後期にみられる過度な線維芽細胞の増殖を抑制し、瘢痕形成を軽減し得る可能性が示された。とくに PRGF は L-PRP と比べて TGF- β の含有量が少ないことが報告されており (H. Masuki, 2016)、このことから TGF- β 誘導性の筋線維芽細胞による瘢痕形成 (G. D. Marconi, 2021) をより抑える作用に関与している可能性があると考えられた。

【細胞閉鎖率】

PRGF および L-PRP はポジティブコントロールと同様に 48 時間後に約 100% の閉鎖率を示した。PRGF は L-PRP と比較して歯肉線維芽細胞の創面閉鎖率に差が認められず、増殖能と走化能の総和としての作用は同程度であると考えられた。その理由としては、白血球に由来する IL-8 や IL-1 β などの各々のサイトカインが細胞の閉鎖率を低下させることが報告されており (F. G. Basso, Lasers Surg Med, 2016)、L-PRP で認められた高い増殖能が IL-8 や IL-1 β の影響で相殺された可能性が考えられる。

【遺伝子発現】

PRGF と L-PRP とともに歯肉線維芽細胞の足場作成に関わる Col3 $\alpha 1$ と血液の供給調整を担う DCN および細胞増殖と移動を制御する PTK7 の mRNA 発現量には差がみられなかった。この結果を示した原因として、真皮線維芽細胞よりも歯肉線維芽細胞が、成長因子 (TGF $\beta 1$) に対する mRNA 発現の増加倍数が少なく (H. Murphy-Marshman, 2017)、サイトカイン (IL-4) への反応の閾値が高いこと (E. Judith, 2013) に起因すると推察された。これらの結果から、PRGF と L-PRP はこれらの遺伝子に係る創傷治癒の観点からは同程度の能力を有すると考えられた。

【結 論】

PRGF および L-PRP の多血小板血漿製剤は、歯肉線維芽細胞の初期の細胞増殖を促進することによって創傷治癒に寄与すると考えられる。解析した 3 つの遺伝子の発現については両者に差はみられず、PRGF と PRP はいずれも歯肉線維芽細胞に対して同等の機能を有することが示唆された。

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 2203	入 学 年 Entrance Year	2022 年 Year
(ふりがな)	うえん じゅ		
氏 名 Name in Full	文 竹		
専 攻 分 野 Major Field	硬組織発生・再生工学		
主 指 導 教 員 Chief Academic Advisor	芳澤 享子		
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			
間葉系幹細胞スフェロイドが移植歯の歯周組織再生に及ぼす影響			
発表要旨 / Abstract			
【緒言】 歯の移植は、良好な治癒が得られれば正常歯と同様に機能するため、歯の欠損に対する有用な治療法である。しかしながら歯移植の成功には十分な歯槽骨の再生が不可欠であるため、これまで歯の移植と骨再生療法の融合を検討してきた。同時にわれわれは、特殊な低接着性培養ディッシュを用いることで自発的なスフェロイド形成が見られ、得られたスフェロイドは高い幹細胞性と骨形成能を獲得することを報告してきた。そこで本研究では、独自に開発した自発的なスフェロイド形成技術を用いて、MSCs由来の自発的なスフェロイドの組織再生に着目し、よりすぐれた歯と歯周組織再生療法の実現を目指し、動物モデルによる基礎的研究を行った。 【材料・方法】 3週齢の雄性C57BL/6Jマウス（SLC, Japan）から上顎第一大臼歯および第二大臼歯の抜歯を行った。マウス頭蓋骨由来MC3T3-E1細胞をスフェロイド形成用の培養ディッシュへ播種し、自発的なスフェロイドを形成させた。担体としてコラーゲン使用人工骨（ボナーク、東洋紡）を用いて、スフェロイドと歯（Spher群）、単層細胞と歯（Monol群）を担体内の挿入し、6週齢雄C57BL/6Jマウス下顎角欠損モデルへ移植を行った。対照群として歯と担体（S-Tooth群）、もしくは歯のみ（Control群）を同様に移植した。移植後1, 2, 4週に検体を採取し、動物用マイクロCTにて撮影と骨形態計測を行った。また、摘出した標本はRNAを抽出と組織標本を作製し、遺伝子発現レベルの定量と組織学的観察を行った。 【結果】 移植1週後、Spher群では新生骨形成が認められたが、新生骨の形成量はごくわずかであった。HE染色で観察した結果、4群とも炎症細胞浸潤が認められ、特にMonol群とSphero群は炎症細胞浸潤が著しく増加した。2週後には、Spher群では新生骨形成が認められ、ほかの三群と比較して有意に大きかった（$p < 0.05$）。骨形成マーカーであるCollagen IとOCNの発現も有意に大きかった（$p < 0.05$）。4週後には、4群とも歯根周囲に新生骨が認められた。Spher群では、新生骨の骨体積（BV）、骨表面積（BS）がほかの三群と比較して有意に大きかった。HE染色で移植歯の周囲に新生骨を見られた。骨形成マーカーであるOCNの発現が4群の間にも有意差は認められなかった。ただしCollagen Iの発現について各群間の差があると示した。 【考察】 マウス頭蓋骨由来MC3T3-E1細胞によるスフェロイドを作成し、マウス歯根未完成歯とコラーゲン使用人工骨を用いた複合体をマウス下顎角欠損モデルへ移植し、間葉系幹細胞スフェロイドによる移植歯の歯周組織再生への影響について検討を行った。4群すべてで移植歯の周囲に新生骨形成が認められたが、Spher群では、2週間後骨再生と骨形成マーカーであるOCNの発現は有意に大きかった。これらの結果から、幹細胞由来自発的なスフェロイドは高い骨形成能を有し、歯の移植における早期骨再生を促進する可能性が示唆された。			

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 2210	入 学 年 Entrance Year	4	年 Year
(ふりがな)	ちょう ろう			
氏 名 Name in Full	張 璐瑶			
専 攻 分 野 Major Field	硬組織疾患制御再建学講座			
主 指 導 教 員 Chief Academic Advisor	影山 徹			
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				
骨格性下顎前突者の随意的口唇閉鎖力 Voluntary lip closure force in skeletal mandibular protrusion				
発表要旨 / Abstract				
1. 目的 口唇は様々な口腔機能を営む中で顎顔面領域において重要な組織であり, このうち口唇閉鎖機能は咀嚼, 嚥下, 発音, 表情による感情の表出に重要な役割を担っている. 不正咬合者と口唇閉鎖力の関連は, 様々な研究で示されてきた. しかし, 外科的矯正手術の前後における最大口唇閉鎖力と随意的な調節能力の変化はまだ明らかになっていない. そこで本研究では, 多方位口唇閉鎖力測定装置を用いて, ビジュアルフィードバックによる口唇閉鎖の調節能力を方向別に評価できるシステムにより, 下顎前突者における術前術後の随意的口唇閉鎖調節能力を調査し, 正常咬合者と比較した. 2. 方法 松本歯科大学病院矯正歯科に来院し, 外科的矯正治療の適応と診断された骨格性下顎前突者 23 名 (女性, 平均年齢 20.0±6.2 歳) について調査を実施した (下顎前突群). 下顎前突群のうち, 骨格性下顎前突患者 (:以下, 非偏位群) 16 名, 下顎偏位を伴う骨格性下顎前突患者 (下顎骨正中 (Me) が顔面正中から 4mm 以上偏位 :以下, 偏位群) 8 名に分類した. 対象として個性正常咬合者 35 名 (女性, 22.7±3.3 歳) を松本歯科大学病院のスタッフから募った (正常咬合群). データの採取は手術直前と術後 6 か月時に行なった. 口唇閉鎖力の測定には多方位口唇閉鎖力測定装置を用い, 被験者自身の発揮する口唇閉鎖力の大きさを多方位口唇力測定装置に視覚的に見ることができるようビジュアルフィードバック用のサブディスプレイを設置した. 最初に, 最大口唇閉鎖力の測定を上下 2 方向と斜め 4 方向 (左上方向, 左下方, 向右上方向, 右下方) の 6 方向それぞれを測定した. 次に, 口唇閉鎖調節能力の測定としてディスプレイ上に最大口唇閉鎖力の 50% の値を目標として表示し, 自らの発揮する口唇閉鎖力を目標に一致するように調節することを指示した. この際, 被験者にはサブディスプレイ上に表示された目標に 6 秒間維持することを指示し, その測定を連続で 3 回行い, 正確率を算出し, 各群間で統計処理を行った. 3. 結果及び考察 ● 本研究の下顎前突非偏位群の 50% 口唇閉鎖調節能力は, 術前と術後の比較において, 全方向で術前より増加した. 上唇領域で特に増加し, 三方向のうち左上と正中上で有意に増加した. ● 偏位群の最大口唇圧と 50% 口唇閉鎖調節能力とも正中方向以外は, 術前より術後に改善傾向を認めるが, 有意差を認めなかった. ● 顎顔面骨格形態の改善量と口唇閉鎖圧力の変化との関係について, ANB および術前-術後の 50% 口唇閉鎖調節能力との関連性について, 非偏位群の上方以外のすべての方向で相関を認め, 下唇正中で中等度の正の相関がみられた. Me と非偏位側下方および下顎正中では中等度以上の相関を認めた. 本研究結果より, 口唇閉鎖の調節能力は外科的矯正治療により, 増加する傾向を示した. 今後, 術後データを更に蓄積し, 治療後における口唇閉鎖調整能力を評価することにより, 顎顔面形態改善後の機能的評価を行いたいと考えている.				