

-大学院歯学独立研究科-

第 126 回 大学院 研究科 発表会 プログラム
第 46 回 テーマ 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 5 月 28 日（水）17 時 25 分 開会

—2025 年 5 月 28 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	—
1	[大学院] 17:30～18:00 司会:小林 教授	「PTH による骨形成作用における骨髄間質細胞由来 Wnt の役割」 高橋 拓実 硬組織疾患制御再建学 硬組織機能解析学	主査:金銅教授 副査:北川教授 :山賀教授
2	[大学院] 18:00～18:30 司会:荒 教授	「マクロファージ様細胞に対するハーブの抗炎症作用の検討」 中島 大明 硬組織疾患制御再建学講座 遺伝子工学・分子創薬学	主査:増田教授 副査:山賀教授 :石田講師
3	[テーマ] 18:30～18:40 司会:増田 教授	「キサントフォームとレーザーを用いた光線力学療法の根管治療への応用」 河村 裕太 健康増進口腔科学 口腔健康分析学	—

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 2113	入 学 年 Entrance Year	2021 年 Year
(ふりがな)	たかはし たくみ		
氏 名 Name in Full	高橋 拓実		
専 攻 分 野 Major Field	硬組織機能解析学		
主 指 導 教 員 Chief Academic Advisor	小林 泰浩		
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			
PTH による骨形成作用における骨髄間質細胞由来 Wnt の役割			
発表要旨 / Abstract			
【背景・目的】 超高齢化社会を迎える日本において、骨粗鬆症をはじめとする著しい骨の脆弱化を伴う疾患の克服に向けた骨代謝制御機構の解明は極めて急務であると言える。現在、骨粗鬆症治療薬の 1 つとして Parathyroid hormone(PTH)が使用されているが、PTH による骨同化作用のメカニズムは未解明な点が多い。PTH の間歇投与により Wnt シグナル抑制因子である Sost 発現が抑制され、Wnt シグナルを活性化させることが明らかとなっている。PTH と Wnt シグナルの関与が認められている一方で、PTH 投与時における Wnt リガンド産生やどの細胞の産生する Wnt リガンドが重要なのか、などといった Wnt リガンド自身の重要性は明らかとなっていない。そこで本研究では、骨における Wnt リガンド発現細胞の 1 つである骨髄間葉系間質細胞 (BMSC) に着目し、PTH による骨形成作用における BMSC 由来の Wnt の役割を明らかにすることを目的とした。 【方法】 Wnt の分泌に必須の分子シャペロンである Wls を BMSC 特異的に欠損させることで、BMSC 特異的に Wnt リガンドが分泌されないマウス(LepR-Cre; Wls^{fl/fl}: BMSC-Wls cKO) を作出した。10 週齢の BMSC-Wls cKO 雄マウスの大腿骨を用いて μ CT 解析を行った。さらに 10 週齢になる 10 日前から PTH(80 μg/ kg)を 1 日 1 回投与し、10 週齢で解剖後、同様に大腿骨を用いて μCT 解析を行った。また、BMSC を赤色蛍光で検出できる(LepR-Tomato)マウスの骨組織切片を用いて Wls 及び Osx の免疫染色を行った。さらに、PTH を投与したマウスの骨をサンプルとしたリアルタイム PCR を行い、Wnt リガンド発現を検討した。 【結果】 μCT の結果、BMSC-Wls cKO マウスの骨量がコントロールと比較し有意に低下していることが明らかとなった。この結果から、BMSC 由来の Wnt が生理学的条件下における骨量の調節に重要であることが示唆された。また、コントロールマウスでは PTH を投与することで骨量が有意に増加した一方で、BMSC-Wls cKO マウスは PTH 投与による骨量の有意な増加が認められなかった。また免疫染色の結果、PTH 投与によりコントロールマウスでは LepR-Tomato⁺細胞、Osx⁺骨芽細胞がともに増加した一方で、BMSC-Wls cKO マウスではそれらの細胞の有意な増加が見られなかった。これらの結果から、PTH は BMSC に作用し Wnt リガンドを分泌させることで、BMSC 数と骨芽細胞数を増加させ、骨形成を増強させることが示唆された。また、骨における Wnt リガンドの発現を調べたところ、PTH 投与により Wnt1 及び Wnt4 の発現が有意に上昇していることが明らかとなった。 【結論】 BMSC 由来の Wnt は、成長過程における骨量増加及び PTH による骨量増加作用に重要である。			

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 2114	入 学 年 Entrance Year	2021 年 Year
(ふりがな)	なかじま ひろあき		
氏 名 Name in Full	中島 大明		
専 攻 分 野 Major Field	硬組織疾患制御学分野 遺伝子工学・分子創薬学		
主 指 導 教 員 Chief Academic Advisor	荒 敏昭		
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			
マクロファージ様細胞に対するハーブの抗炎症作用の検討			
発表要旨 / Abstract			
【目的】 歯周病および口内炎などの炎症性疾患に対して生薬がどのような効果を及ぼすかを検討し、これまでに漢方薬および生薬(生姜と乾姜)がヒト歯肉線維芽細胞およびマウスマクロファージ様 RAW264.7 細胞に対して抗炎症作用を示すことを報告した。今回は漢方薬以外のハーブの抗炎症作用を検討することを目的として、RAW264.7 細胞から産生される一酸化窒素 (NO) 量に対するハーブ(クマザサ、月桂樹、イチヨウ葉、黒ウコン、ビルベリー)の作用を検討した。さらにこれらのハーブが NO 産生量を低下させるメカニズムを解析した。 【方法】 常磐植物化学研究所から無償供与されたハーブを使用した。クマザサエキスは水に溶解し、月桂樹エキス、イチヨウ葉エキス、黒ウコンエキス、ビルベリーエキスは 50%エタノールに溶解した。RAW264.7 細胞は 10%FCS 添加 D-MEM で培養した。NO 産生量に対するハーブの影響を検討するために、細胞を 96 穴プレートに播き、<i>Porphyromonas gingivalis</i> 由来 LPS 100 ng/mL とハーブを含む培地で 24 時間刺激(同時刺激)あるいは LPS で 1 時間刺激した後にハーブを含む培地で 24 時間刺激(連続刺激)した。培養上清を回収し、同時に生細胞数を測定した。生細胞数は WST-8 を使用して測定した。NO の産生量は Griess 法で測定し、生細胞数で補正した。誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) および NF-κB のサブユニットの 1 つである p65 のリン酸化の程度をウェスタンブロット法で検討した。活性酸素 (ROS) の産生量はカルボキシ-H₂DCFDA の蛍光強度を測定することで検討した。 【結果】 細胞生存率を調べたところ、クマザサは 1 mg/mL まで、それ以外のハーブは 0.1 mg/mL までは細胞の生存率に影響を与えなかった。NO 産生量に対するハーブの影響を調べたところ、同時刺激および連続刺激とも月桂樹と黒ウコンは LPS 刺激による NO 産生量を低下させたが、それ以外のハーブは影響が弱いあるいは見られなかった。また、月桂樹は同時刺激と比較して連続刺激の方が NO 産生量をより低下させた。NO 産生量に対する月桂樹および黒ウコンの IC₅₀ は、同時刺激では月桂樹が 22.5 μg/mL、黒ウコンが 32.8 μg/mL、連続刺激では月桂樹が 16.4 μg/mL、黒ウコンが 65.2 μg/mL だった。月桂樹および黒ウコンは LPS 刺激によって誘導される iNOS の発現量を低下させた。iNOS の発現は NF-κB によって誘導されることから p65 のリン酸化を調べたところ、月桂樹は p65 のリン酸化を抑制した。月桂樹は LPS 刺激によって誘導される ROS 産生量を低下させたが、黒ウコンは ROS 産生に影響を与えなかった。 【考察】 今回の結果から、月桂樹および黒ウコンが NO 産生量を低下させることから抗炎症作用を示すと考えられた。ただし月桂樹および黒ウコンが NO 産生量を低下させるメカニズムは異なると考えられた。月桂樹は NF-κB の活性化および ROS の産生の両方を阻害することで iNOS 発現を抑制することが示唆された。一方、黒ウコンはこの 2 つの経路に影響することなく iNOS 発現を抑制することが示唆された。また、月桂樹が同時刺激よりも連続刺激で NO 産生量をより低下させたことから LPS 存在下では作用が弱く、抗炎症作用を期待するためには LPS などを除去することが必要であることが示唆された。			