

-大学院歯学独立研究科-

第 115 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：2021 年 7 月 28 日（水）17 時 25 分 開会

—2021 年 7 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 平岡研究科長	
1	[中 間] 17:30～18:00 司会:小林 教授	「歯周組織における Wnt/ β -カテニンシグナル活性化細胞の分布」 加藤 大樹 4 年 硬組織疾患制御再建学講座 硬組織機能解析学専攻	主査:平賀教授 副査:大須賀教授 :吉成教授
2	[中 間] 18:00～18:30 司会:吉成 教授	「大動脈血管内皮細胞への炎症性刺激による 老化関連因子の検討」 田井 康寛 健康増進口腔科学講座 口腔健康分析学専攻	主査:荒教授 副査:平岡教授 :影山准教授

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.	ID # G 1805	入 学 年 Entrance Year	2018 年 Year
氏 名 Name in Full	加藤 大樹		
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			
歯周組織における Wnt/ β -カテニンシグナル活性化細胞の分布			
発表要旨 / Abstract			
【目的】 歯科矯正治療に伴い歯周組織のリモデリングが起こる。しかし、歯根膜細胞のリモデリングについて不明な点が多い。Wnt は β-カテニンを介する経路とそれを介さない経路を活性化する。近年、Wnt/β-カテニンシグナルが骨添加を促進するシグナルであることが明らかになってきた。さらに、矯正学的な歯の移動に伴い圧迫側(骨吸収側)において阻害因子である Sclerostin の発現が増加することが報告された。細胞系譜解析から、Wnt/β-カテニンシグナル活性化細胞が、臼歯の根尖部に局在することやセメント細胞に分化すること歯肉上皮細胞の増殖に関与することが報告されている。しかし、生理的な状態において、Wnt/β-カテニンシグナル活性化細胞が歯周組織のどこに分布するか、また、一旦活性化された細胞がどのような細胞に分化するか、その詳細について未解明な部分が多い。 【方法】 Wnt/β-カテニンシグナルの標的遺伝子である Axin2 プロモータ制御下に、タモキシフェン(TAM)存在下で、Cre リコンビナーゼを発現する Axin2-CreERT2 マウスと、Cre リコンビナーゼが発現した細胞で、赤色蛍光タンパク質を発現する TdTomato マウスを交配し、Axin2CreERT2-Tomato マウスを作出した。4、6、30、48 週齢の Axin2CreERT2-Tomato マウスに 75 mg/kg/day の用量で TAM を 2 回腹腔内投与し、Wnt/β-カテニンシグナルが活性化された細胞をラベルした。投与後 3 日後に大腿骨と上顎骨を採取し、蛍光顕微鏡を用いて Tomato 陽性細胞の局在を観察した。 【結果と考察】 4 週齢マウスでは根管歯髄と根尖部に多数の Tomato 陽性細胞が認められた。根分岐部では歯根と歯槽骨の境界にわずかに Tomato 陽性細胞が認められた。一方、根尖に近い歯根膜では、歯根に接した陽性細胞を認めた。6 週齢では、根管歯髄、根尖部歯髄の陽性細胞は顕著に減少した。根部歯根膜の陽性細胞が減少したが、根尖部の陽性細胞の数と分布は、4 週令とそれと同様であった。30 週齢では、歯髄内、歯根膜内の陽性細胞はさらに減少し、48 週齢では、根尖部歯根膜にわずかに陽性細胞を認めた。Wnt/β-カテニンシグナルが骨形成に重要であることから、多くの骨表面の骨芽細胞がラベルされると予想したが、分岐部歯槽骨内では、4 週齢のマウスにおいても、わずかな陽性細胞を認めるのみであった。この結果から、歯が萌出後の歯根膜や歯槽骨においては、散発的に Wnt/β-カテニンシグナルが活性化されていると考えられる。今後、2 日間でラベルされた細胞が、30 日後にどのような歯周組織に分布するかを調べる予定である。			

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 1704	入 学 年 Entrance Year	2017	年 Year
氏 名 Name in Full	田井康寛			
専 攻 分 野 Major Field	口腔健康分析学			
主 指 導 教 員 Chief Academic Advisor	吉成 伸夫			
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				
大動脈血管内皮細胞への炎症性刺激による老化関連因子の検討				
発表要旨 / Abstract				
・背景 現在、我が国は超高齢社会となっており、高齢者の健康寿命をいかにして長期間持続させるかという社会的必要性から、生物学的老化メカニズムの解明が最重要課題となっている。加齢は心臓血管疾患 (Cardiovascular Disease: CVD) に対する最も有力な危険因子であるが、その原因疾患である動脈硬化症と加齢を結びつけるメカニズムはまだ十分に解明されていない。また、加齢が歯周病の発症と進行にも関与している可能性も考えられる。本研究では動脈硬化症の悪化過程に老化関連因子が関与していると仮定し、血管内皮細胞に発現する老化関連因子の解析を行うこと、また、加齢が歯周病と動脈硬化症の悪化機序にどのように影響を及ぼすかを解析することを目的とした。 ・方法 (1) 歯周病誘導性に動脈硬化症が惹起されるメカニズムについて検討するために、若齢者または高齢者由来のヒト大動脈血管内皮細胞(HAECs)に対して血清アミロイド A(SAA, 2μg/ml)を添加し、10 日または 20 日間培養を行った。培養細胞より cDNA を精製し、老化関連因子(p16, p21, p53)および接着分子(ICAM-1, VCAM-1)の遺伝子発現を real - time PCR 法にて定量し、コントロール群と比較した。 (2) 老化が歯周病と動脈硬化症の悪化機序に及ぼす影響について検討するために、HAECs を継代培養することにより細胞老化を誘導し、歯周病原細菌である <i>Porphyromonas gingivalis</i> 由来の LPS を添加し、ELISA 法にて HAECs が産生する老化関連タンパクである SASP (IL-1β, IL-6, IL-8, MMP-3, MMP-9, MMP-12, TNF-α, VEGF, HGF) を測定した。 ・結果 (1)において、高齢者由来の HAECs では、SAA 添加培養群において接着分子の遺伝子発現量が有意に増加した。このことから、老化により血管内皮細胞はより炎症を起こしやすくなっていることが示唆され、従来の歯周炎局所で産生された IL-6 により SAA が増加し、SAA 刺激が toll-like receptor-2 を介して血管内皮細胞の機能障害を惹起し、動脈壁へのマクロファージ浸潤を誘発して動脈硬化症を進行させることが提示された。一方で、老化関連因子については有意な差は認められなかった。 (2)において、継代培養により細胞老化を惹起した HAECs に LPS を添加すると、IL-6 の 発現量が有意に増加することが明らかとなった。一方で、老化関連因子の発現量に有意な差はなかった。 ・結論 本研究結果より、歯周病と動脈硬化症の基盤病態において IL-6 が関与し、老化が両疾患を悪化させる機序において重要な役割を果たす可能性が示唆された。				