

第 24 回硬組織再生生物学会学術大会・総会
大会長 大浦 清
〒573-1121 大阪府枚方市楠葉花園町 8 番 1 号
Mail: ohura@cc.osaka-dent.ac.jp
TEL 072-864-3058
FAX 072-864-3158

8 月 吉日

硬組織再生生物学会
参加者 各位

第 24 回硬組織再生生物学会学術大会・総会 プログラム抄録集の送付について

前略

いつも大変お世話になっております。

今年度のプログラム抄録集の原稿が遅くなりましたが、出来上がりました。

しかしながら、抄録集の印刷には、多少時間がかかります。利便性を考え、本年度も HP 上に PDF ファイルとしてアップロードすることで、皆様へのご案内に代えさせていただきます。

冊子体は会場にて参加者に配布いたしますので、よろしく願いいたします。

8 月 22 日の学術大会には、たくさんの皆様のご出席を賜りたいと存じます。

盛会な会になりますように準備して参ります。どうかよろしく願いいたします。

草々

本件に関するお問い合わせ先（学会事務局）
〒573-1121 大阪府枚方市楠葉花園町 8 番 1 号
準備委員長 天野均
TEL 072-864-3058 FAX 072-864-3158

第24回硬組織再生生物学会学術大会・総会

24th Annual Meeting of the Society for Hard Tissue Regenerative Biology

テーマ

「未来医療を拓く硬組織研究」

会期：2015年8月21日（金）～22日（土）

会長：大浦 清

大阪歯科大学 薬理学講座 主任教授

会場：大阪歯科大学創立100周年記念館3階

（大阪市中央区、大阪歯科大学天満橋学舎）

主催事務局

大阪歯科大学薬理学講座

〒573-1121 大阪府枚方市楠葉花園町8-1

TEL：072-864-3058

FAX：072-864-3158

硬組織再生生物学会 総会・学術大会の記録

回	開催年	期 日	担当大学	開催地	大会長
1	1991年	3月28日	岡山大学	岡山	永井教之
2	1992年	3月27日	鶴見大学	横浜	川崎堅三
3	1993年	3月27日	北海道大学	東京	久保木芳徳
4	1994年	3月25日	九州歯科大学	北九州	福山 宏
5	1995年	3月20日	慈恵会医科大学	東京	田辺晴康
6	1996年	3月15日	奥羽大学	郡山	山崎 章
7	1998年	3月14日	日本大学	東京	大塚吉兵衛
8	1999年	7月24日	旭川医科大学	旭川	北 進一
9	2000年	8月5日	帝京大学	東京	兒野善穂
10	2001年	8月4日	岩手医科大学	盛岡	佐藤方信
11	2002年	9月14日	日本大学	松戸	小沢幸重
12	2003年	9月13日	大阪医科大学	高槻	島原政司
13	2004年	10月23日	九州歯科大学	北九州	細川隆司
14	2005年	9月17日～20日	岡山大学	岡山	永井教之
15	2006年	9月16日	京都大学	京都	田畑泰彦
16	2007年	9月22日	松本歯科大学	塩尻	川上敏行
17	2008年	8月30日	徳島文理大学	徳島	瀬津弘順
18	2009年	9月5日	北海道医療大学	札幌	有末 眞
19	2010年	9月4日	就実大学	岡山	中西 徹
20	2011年	8月27日	日本大学	東京	大塚吉兵衛
21	2012年	8月25日	愛知学院大学	名古屋	前田初彦
22	2013年	8月22日	鶴見大学	横浜	早川 徹
23	2014年	8月21日～22日	中山医学大学	台中	周 明勇
24	2015年	8月21日～22日	大阪歯科大学	大阪	大浦 清

第1回から第6回までは「硬組織研究技術学会」として開催

第7回から第12回までは「硬組織生物学会」として開催

第14回は「International Symposium of Maxillofacial & Oral Regenerative Biology in OKAYAMA 2005 (口腔顔面頭蓋再生研究国際シンポジウム)」、「第5回日本外傷歯学会」および「アジア外傷歯学会国際シンポジウム」と共催

学会会場へのご案内

会場

大阪歯科大学創立 100 周年記念館(天満橋学舎)

〒540-0008 大阪市中央区大手前 1 丁目 5 番 17 号

TEL 06-6910-1111(代表) <http://www.osaka-dent.ac.jp/hospital/>

最寄駅

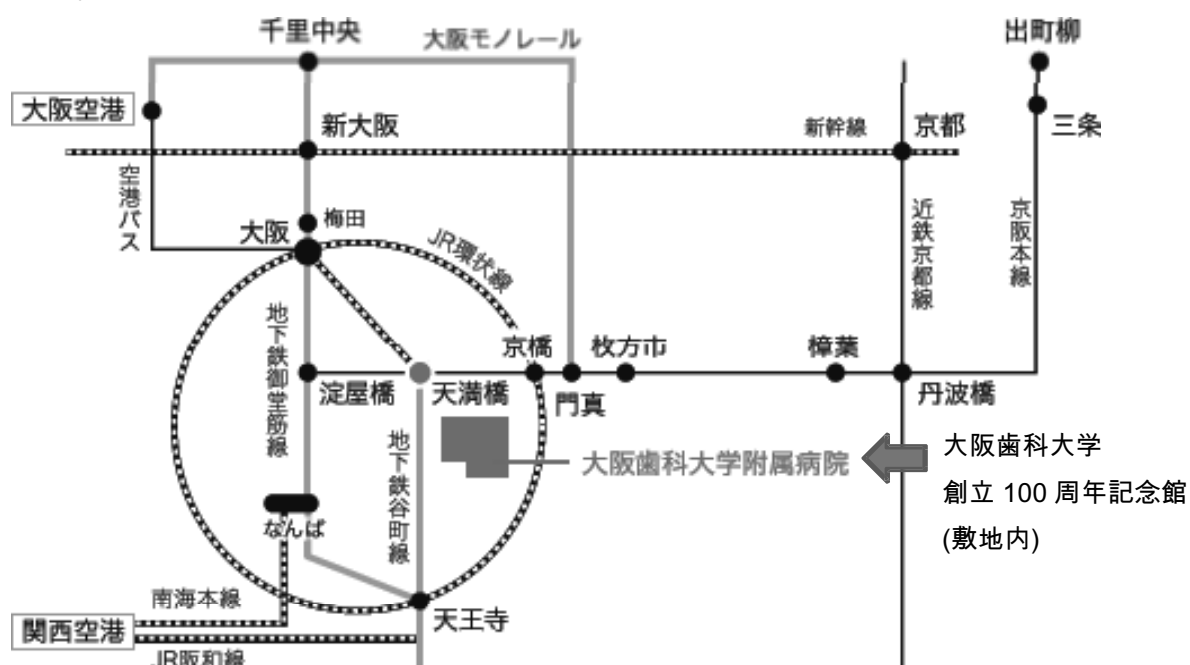
- 京阪電車「天満橋」駅

京阪シティーモール方向に東へ進み、OMMビルの向かい

- 地下鉄 谷町線 「天満橋」駅

1 番出口を出て、OMMビルの向かい

access map



参加者へのご案内

1. 参加受付について

参加受付 (大阪歯科大学創立 100 周年記念館 3 階 ホール) にてご登録ください。お支払いはすべて現金でお願いいたします。参加費と引き換えに参加証 (ネームカード) をお渡しいたします。入会受付や年会費 (7,000 円) の納入も承ります。非会員様は、別途抄録代 1000 円を戴きます。

参加費

一般 (会員)	3,000 円
一般 (非会員)	4,000 円
大学院生	1,000 円
学部学生	無料

2. 講演者へのご案内

- ・ Power Point 2007,2010,2013 で読み込み可能な形式で保存したプレゼンテーションファイルをご準備ください。一般口演の発表データにつきましては、USB メモリーでのお持ち込みに限らせていただきます。
- ・ プレゼンテーションファイルを保存した USB メモリ、または PC 本体をセッション 開始 1 時間前までに 受付までご持参ください。受付にて動作確認を行ってください。
- ・ Mac をお持ち込みになる場合は、VGA アダプタ接続用のコネクタを必ずご持参ください。
- ・ 次演者は次演者席にお着きください。
- ・ 発表、質疑応答の時間は次の通りです。

	発表時間	質疑応答
特別講演	45 分	5 分
学会賞受賞記念講演	15 分	5 分
一般演題	7 分	2 分

3. ポスター発表者へのご案内

- ・ ポスターの貼付スペースは幅 90 cm×高さ 150 cm です。ポスター上部 20 cm に演題番号、演題名、発表者および所属の記載をお願いいたします。
- ・ ポスターの貼付は 9 : 30 までに完了してください。
- ・ 発表者はポスター演題発表時間 (13 : 45 ~ 15 : 00) ポスターボードについていたりボンをつけてポスター前で待機してください。
- ・ 5 分間の発表時間を設けますので、座長の指示に従って下さい。
- ・ 学会閉会後には、速やかにポスターの撤去をお願いいたします。

4. 昼食・飲食について

- ・ 創立 100 周年記念館内での飲食は禁止です。
- ・ 昼食は大阪歯科大学附属病院本館 14 階レストランプラザフォーティーンにてランチオンパーティー(12 : 30 ~ 13 : 30 立食) を用意しております。参加希望者は、参加証の掲示をお願いいたします。(無料)

5. 座長へのご案内

- ・ 次座長は次座長席にお着きください。
- ・ プログラムの進行につきましては、座長に一任いたします。
- ・ 発表時間を厳守し、円滑な学会運営にご協力をお願いいたします。

6. クローク

- ・ ポスター会場の一部をセルフクロークとしております。ご自由にお使いください。
- ・ 貴重品は各自で管理してください。

理事の先生方へのご案内

理事会

日 時 : 2015 年 8 月 21 日 (金) 16 : 00 ~ 17 : 30 (15 時 40 分受付開始)
場 所 : 大阪歯科大学附属病院 14 階 プラザフォーティーン

理事懇親会

日 時 : 2015 年 8 月 21 日 (金) 18 : 00 ~ 20 : 00
場 所 : 大阪歯科大学附属病院 14 階 プラザフォーティーン
会 費 : 5,000 円

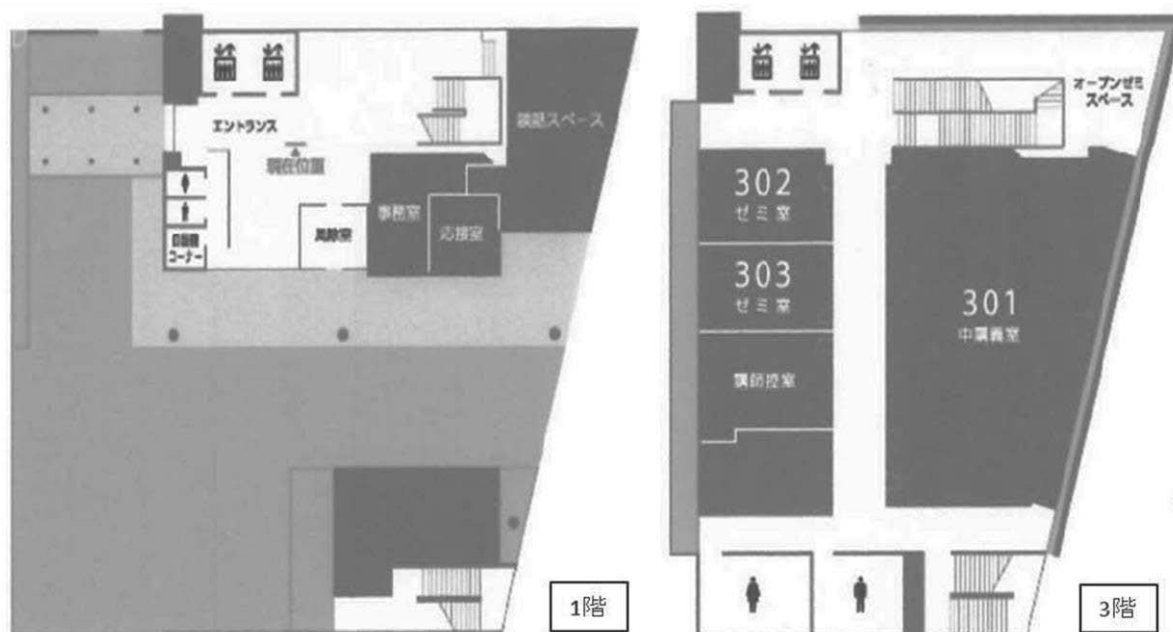
7. 連絡先

第 24 回硬組織再生生物学会学術大会・総会 準備委員会事務局
〒573-1121 大阪府枚方市楠葉花園町 8-1
大阪歯科大学薬理学講座内
準備委員長 : 天野 均 amano@cc.osaka-dent.ac.jp
TEL : 072-864-3058 FAX : 072-864-3158

会場案内図

大阪歯科大学 100 周年記念館および附属病院

100 周年記念館



受付 3階

講演会場 3階 301 中講義室

ポスター会場 3階 302, 303 ゼミ室

クローク ポスター会場内

理事会 大阪歯科大学附属病院 14階 プラザフォーティーン

理事懇親会 大阪歯科大学附属病院 14階 プラザフォーティーン

昼食会場 大阪歯科大学附属病院 14階 プラザフォーティーン
(隣接ビル内にあります。)

8月21日(金) 大阪歯科大学附属病院 14階

時刻	
15:40~	受付(プラザフォーティン)
16:00~17:30	理事会(プラザフォーティン)
18:00~20:00	理事懇親会(プラザフォーティン)

8月22日(土) 大阪歯科大学 100周年記念館 3階

時刻	
8:30~	受付
9:00~9:10	開会
9:10~9:40	一般演題(口演)1
9:45~10:55	シンポジウム
11:00~11:50	特別講演
12:00~12:30	総会
12:30~13:30	昼食・休憩
13:45~15:00	一般演題(ポスター)
15:05~15:35	一般演題(口演)2
15:35~16:15	学会賞受賞記念講演
16:20~16:30	優秀演題表彰
16:30~16:40	閉会

- 特別講演、シンポジウム、学会賞受賞記念講演、一般演題(口演)及び総会は
3階 301 中講義室
- 一般演題(ポスター)は 3階 302, 303 セミ室

プログラム

第 24 回硬組織再生生物学会 学術大会 プログラム

開 会 9 : 00 ~ 9 : 10

挨拶

大会長 大浦 清, 大阪歯科大学 薬理学講座

一般演題 (口演) 1 9 : 10 ~ 9 : 40 座長 : 長塚 仁 (岡山大学)

- O-1 LIPUS (低出力超音波) による間葉系幹細胞の分化能維持
楠山讓二, 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 口腔生化学分野
- O-2 チタンインプラントへの DNA/プロタミンレイヤー固定化が骨形成促進に与える影響
櫻井敏継, 鶴見大学歯学部 有床義歯補綴学講座
- O-3 フィブロネクチン固定化チタンインプラントの骨形成能
廣田正嗣, 鶴見大学歯学部 歯科理工学講座

シンポジウム 9 : 45 ~ 10 : 55 座長 : 天野 均, 西川哲成 (大阪歯科大学)

- S-1 硬組織標本の共焦点レーザー走査顕微鏡による観察
西川哲成, 大阪歯科大学 口腔病理学講座
- S-2 骨形態計測に用いられる非脱灰切片作成法の比較
青木和広, 東京医科歯科大学医歯学総合研究科 硬組織薬理学分野
- S-3 リアルタイム細胞分析システムを用いた新しい破骨細胞定量法
岩井信市, 昭和大学薬学部 社会健康薬学講座
- S-4 *In vivo* バイオイメージングを用いた骨粗鬆症治療薬の薬効評価
菊田順一, 大阪大学大学院医学系研究科 免疫細胞生物学

特別講演 11:00～11:50

座長：大浦 清（大阪歯科大学）

SL 骨量制御の分子機構

野田政樹

東京医科歯科大学難治疾患研究所 分子薬理学

学会総会 12:00～12:30

昼食・休憩 12:30～13:30

一般演題（ポスター） 13:45～15:00

座長 P-1～P-8 村田 勝（北海道医療大学）

P-9～P-17 王 宝禮（大阪歯科大学）

P-1 インプラント蛋白(チタンに結合して骨を造成する蛋白)の発見とその後の展開
久保木芳徳，北海道大学大学院 地球環境

P-2 脱灰象牙質マテリアルの生化学的分析
伊藤勝敏，北海道医療大学歯学部 生体機能・病態学系 顎顔面口腔外科学分野

P-3 ハニカム β -TCP の孔径による硬組織再生制御
于 淞，岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 口腔病理学分野

P-4 CRP が脂肪細胞の細胞外基質タンパク分解酵素とその内因性阻害剤の発現に及ぼす
影響
中井久美子，日本大学歯学部 衛生学講座

P-5 *Porphyromonas gingivalis* を口腔感染させたマウスにおける歯槽骨吸収を伴った
炎症性歯肉の粘膜免疫応答について
河野哲朗，日本大学松戸歯学部 解剖学II講座

- P-6 実験的咬合性外傷における歯根膜中 HSP47 の発現推移
三村泰亮，松本歯科大学 大学院歯学独立研究科
- P-7 メカニカルストレスが惹起するマウス歯根膜における HSP70 の免疫組織化学的発現推移
村岡理奈，松本歯科大学 歯科矯正学講座
- P-8 実験的咬合性外傷における歯周組織変化
高谷達夫，松本歯科大学 大学院歯学独立研究科
- P-9 排膿散及湯の歯周病に対する基礎医学的研究
王 宝禮，大阪歯科大学 歯科医学教育開発室
- P-10 オゾンの新規薬理作用の解明
益野一哉，大阪歯科大学 歯科医学教育開発室
- P-11 ヒト歯肉線維芽細胞を利用した歯周病に対するプラセンタの薬理効果の解明
本田義知，大阪歯科大学中央歯学研究所
- P-12 ニコランジルによる破骨細胞分化過程におよぼす抑制効果
岩城 太，大阪歯科大学 薬理学講座
- P-13 実験的コレステリン肉芽腫における骨髄間葉細胞由来の血管内皮細胞
松田紗衣佳，松本歯科大学 大学院歯学独立研究科
- P-14 歯の発生研究モデルとしてのミドリフグの観察
山本 仁，東京歯科大学 組織・発生学講座
- P-15 ラット歯髓由来細胞のチタン上における細胞分化能について
佐藤伸明，愛知学院大学歯学部 口腔病理学講座
- P-16 鎖骨頭蓋異形成症患者由来細胞を用いた疾患特異的 iPS 細胞の樹立と機能解析
齋藤暁子，東京歯科大学 生化学講座
- P-17 ヒト口腔がん細胞株 SCC-4 における side population 細胞の性状解析
西五辻理江，大阪歯科大学大学院歯学研究科 薬理学講座

一般演題 (口演) 2 15 : 05 ~ 15 : 35 座長 : 川上敏行 (松本歯科大学)

O-4 低出力超音波刺激は骨芽細胞の AT1 受容体を介した LPS 誘導性 IL-1 α 産生を抑制する
長尾麻由, 日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野

O-5 多形腺腫における YAP と CCN2 の発現
小野早和子, 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 口腔病理学分野

O-6 GFP 骨髄移植マウスを用いた、異所性骨形成過程における骨髄由来細胞の役割の検討
松田寛之, 岡山大学医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻 口腔病理学分野

学会賞受賞記念講演 15 : 35 ~ 16 : 15 座長 : 見明康雄 (東京歯科大学)

AL-1 ヒト歯根膜由来間葉系幹細胞の CD146 表面マーカーに関する研究
齋藤瑛子, 日本大学歯学部 歯科矯正学講座

AL-2 遠赤外線エネルギーを放射するセラミックス(流紋岩)は骨形成を促進する
アルダルツォグト・ドルゴルスレン,
徳島大学大学院医歯薬学研究部 口腔顎顔面形態学分野

優秀演題表彰 16 : 20 ~ 16 : 30

1 優秀一般演題 (口演) 表彰

2 優秀一般演題 (ポスター発表) 表彰

閉 会 16 : 30 ~ 16 : 40

挨拶

次期大会長 前野正夫, 日本大学歯学部 衛生学講座

特別講演

野田政樹先生 主な略歴

- 1971年4月 東京医科歯科大学医学部入学
1977年3月 東京医科歯科大学医学部卒業
1977年4月 東京医科歯科大学医学部整形外科学教室入局研修医
1978年6月 東京医科歯科大学医学部整形外科学教室研修医終了
1980年4月～1983年10月
東京医科歯科大学大学院
1983年11月 フルブライト大学院留学 米国コネチカット大学留学
1985年12月 フルブライト大学院留学修了
1985年12月 メルク・シャープ・ドーム研究所 骨生物学骨粗鬆症研究部門・研究員
1987年12月 メルク・シャープ・ドーム研究所 骨生物学骨粗鬆症研究部門・骨生理学研究室長
1991年4月 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 機能・調節疾患研究部門・分子薬理学教室・教授
1992年3月 東京医科歯科大学医学部非常勤講師（整形外科学、内科学、生化学、薬理学）
2000年4月 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 器官システム制御学系専攻分子薬理学・教授
2002年4月～ 新潟大学非常勤講師
2002年～2008年
International Bone and Mineral Society (IBMS)理事
2003年4月～ 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科
器官システム制御学系専攻形質発現制御学教授兼任
東京医科歯科大学 大学院生命情報科学教育部 高次生命科学教授兼任
2003年4月～2008年3月
21世紀COEプログラム 歯と骨の分子破壊と再構築のフロンティア 拠点リーダー
2004年4月～現在
東京医科歯科大学 難治疾患研究所 先端分子医学研究部門分子薬理学・教授
2004年4月～東京医科歯科大学教育研究評議会評議員
2005年1月～独立行政法人日本学術振興会 科学研究費委員会専門委員
2005年4月～2007年3月
東京医科歯科大学 難治疾患研究所 所長
2005年4月～岡山大学非常勤講師
2006年8月20日～2008年9月
日本学術会議連携会員
2007年8月～2009年3月
東京医科歯科大学 難治疾患研究所 所長(再任)
2008年4月～2009年3月
東京医科歯科大学 副理事(研究担当)
2008年4月～2010年3月
東京医科歯科大学公益通報処理委員会委員
2008年4月～2013年3月
グローバルCOEプログラム 歯と骨の分子疾患科学 国際教育研究拠点 拠点リーダー
2008年10月～2014年9月
日本学術会議連携会員(再任)
2009年～2011年
American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR) Councilor
2010年～2016年3月
京都大学ウイルス研究所共同利用・共同研究運営委員
2010年4月～2013年3月
独立行政法人日本学術振興会学術システム研究センター 研究員
2010年11月～2014年3月
独立行政法人産業技術総合研究所研究ユニット評価委員会（幹細胞工学研究センター）委員
2012年 独立行政法人科学技術振興機構（JST）国際科学技術協力推進委員
2013年 独立行政法人科学技術振興機構（JST）国際科学技術協力推進委員 委員長
現在に至る

骨量制御の分子機構

野田政樹

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子薬理学

骨量のレベルは、リモデリングにおける骨形成と骨吸収の両者のバランスにより保たれる。骨量制御因子の中で物理的因子は寝たきりの患者や宇宙飛行士における骨量の低下や運動選手の負荷のかかる骨の増加などからヒトにおいても現象としては経験されるが其の機構は尚十分には明らかでない。不動性の骨量減少症のモデルである後肢非荷重動物においては、骨形成の低下並びに骨吸収の亢進の両方の負の要因により骨量の減少が速やかに進行する。この際に、プロプラノロールなどベータブロッカーはこの形成の低下、並びに吸収の亢進のいずれも緩和する。一方、ベータアゴニストのイソプレテレノールは骨吸収の亢進、及び骨形成の低下により骨量の低下をもたらすが、イソプレテレノールと非荷重の両者は夫々の単独の場合と同じレベルの骨量低下、骨形成低下、骨吸収亢進を示し両者の共通のシグナル経路が推察される。これらの観察は不動性の骨量減少における交感神経系の関与を示唆する。本講演においては、これらの骨量制御に関わる分子機構について概説する。

Molecular Bases for the Regulation of Bone Mass

Masaki Noda

Department of Molecular Pharmacology Medical Research Institute

Tokyo Medical and Dental University

Osteoporosis is induced by the negative balance between bone formation and bone resorption. Disuse osteoporosis occurs in bed-ridden patients or astronauts as physical stimuli is lost in these cases and it is a serious issue as aged population is soaring in the modern society. Though phenomenology is well experienced, molecular bases underlying disuse osteoporosis is still incompletely understood. One of the signaling base for the disuse osteoporosis is sympathetic tone and this point will be discussed in light of the local and systemic factors involved in the layered regulatory mechanism to determine the levels of bone mass.

主な受賞歴

Fulbright Scholarship, 1983 年月

American Society for Bone & Mineral Research. Young Investigator Award. 1988 年

International Conference of the Chemistry and Biology of Mineralized Tissues.

Young Investigator Award. 1988 年

The Alumni Association Award of Tokyo Medical and Dental University. 1990 年

日本骨代謝学会特別賞、2003 年 6 月

シンポジウム

「硬組織再生療法に対する薬効評価の新技术」

「硬組織再生療法に対する薬効評価の新技术」

座長 天野 均、西川哲成（大歯大）

シンポジウム開催企画意図

硬組織再生研究の進歩により、近年新規の骨粗鬆症治療薬による骨量増加を著名に示す薬物やサプリメントの開発・販売及び基礎研究により、さらなる薬効を示す有望な化合物の発見が目立つ。

しかしながら、骨組織は骨形成と骨吸収のリモデリングがある複雑な骨代謝調節機構を擁しているために従来の骨形態計測法を用いると薬効を解析するのに数か月を要してしまう。またビスホスホネート系薬剤のように、厳しい臨床試験でも著名な効果が出る薬物であることが承認されても、顎骨壊死という動物実験では再現できなかった副作用が出現することがある。硬組織再生療法は、克服しなければならない様々な問題点を抱えているのが現状である。

本シンポジウムでは、従来法を改善または、最新の機器・手法を利用することで、薬効評価に関する論文を発表されているシンポジストの方々をお呼びしました。注目されている最新の技術・手法を紹介して頂き、硬組織再生療法を行うにあたり、よりよい実験モデルの確立と迅速な薬効評価技術の更なる進歩に関する御提言をしていただきます。

S-1

硬組織標本の共焦点レーザー走査顕微鏡による観察
西川哲成
大阪歯科大学 口腔病理学講座

石灰化された硬組織は物理的に研磨あるいは化学的に脱灰して光学顕微鏡によって組織学像が得られる。これだと微細構造が変化する恐れがある。我々は共焦点レーザー走査顕微鏡 (CLSM) を用いた硬組織の観察の有用性を紹介する。CLSM では高倍率で、断層像が得られ、化学的あるいは物理的な損傷を伴う薄い切片を必要としない。さらに、CLSM では実験動物に2種類の蛍光色素をずらして生体投与することにより、組織レベルで新生骨の石灰化の速度や方向を調べることができる。

Observation of hard tissue with Confocal Laser Scanning Microscopy

Tetsunari NISHIKAWA

Department of Oral Pathology, Osaka Dental University, Osaka, Japan.

The calcified tissues are subjected to chemical decalcification or physical grinding to observe their histological features with light microscopy. The microscopic tissue morphology is significantly altered. We investigated the usefulness of confocal laser scanning microscopy (CLSM) for the observation of hard tissue. CLSM produced high-magnificated and tomographic images of newly-formed bone and thin sections with decalcification or grinding were not needed. In addition, by shifting the time of administration of 2 fluorescent dyes to experimental animals, the speed and the direction of calcification of newly-formed bone could be observed at histological level.

略歴

昭和 51 年 3 月 大阪歯科大学 卒業

昭和 55 年 3 月 大阪歯科大学大学院 修了 (病理学専攻)

昭和 55 年 4 月 大阪歯科大学 助手

平成 1 年 4 月 大阪歯科大学 講師

平成 8 年 4 月 大阪歯科大学 助教授

平成 8 年 5 月 シドニー大学歯学部 博士研究員 (病理学) (平成 9 年 5 月まで)

平成 19 年 4 月 大阪歯科大学 准教授 (現在に至る)

主な受賞歴

平成 17 年 The 2005 Ralph V. McKinny, Jr Award, International Congress Oral Implantology

骨形態計測に用いられる非脱灰切片作成法の比較

青木 和広

東京医科歯科大学 医歯学総合研究科 硬組織薬理学分野

骨形態計測は骨代謝を数値化するために重要な道具である。近年、遺伝子変異マウスを用いたあるタンパクの生理学的意味合いを知るために良く用いられている。新規薬剤の骨代謝への作用を明らかにするためにも骨形態計測手法は欠かせない。本シンポジウムでは MMA 法、GMA・MMA 法、凍結切片による川本法による非脱灰切片作成法を比較するとともに、我々が開発してきた RANKL 結合ペプチドのマウスモデルにおける骨形成促進作用を紹介する。

The comparison of methods for making undecalcified sections

Kazuhiro AOKI

Department of Bio-Matrix (Pharmacology), Graduate School, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan.

Bone histomorphometric technique is a critical tool for quantifying bone metabolism. Recently, it has been often used for clarifying the physiological meaning of a certain protein by using a gene mutation mouse. It also has a pivotal role for evaluating the effects of newly designed drugs on remodeling balance. Here I will compare the three methods for making undecalcified sections, MMA method, GMA/MMA method, and the Kawamoto-method, introducing the anabolic effects of RANKL-binding peptides on bone formation in several mice models.

略歴

昭和 63 年 3 月 東京医科歯科大学 歯学部歯学科 卒業

平成 4 年 10 月 東京医科歯科大学 大学院 修了 (歯科薬理学専攻)

平成 4 年 10 月 財) 松翁会歯科診療所 勤務

平成 7 年 4 月 東京医科歯科大学 歯学部 歯科薬理学講座 助手

平成 9 年 10 月 米国 Yale 大学医学部 博士研究員

(細胞生物学・整形外科学) (平成 11 年 10 月まで)

平成 12 年 4 月 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 助教

(硬組織薬理学分野)

平成 21 年 4 月 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 准教授

(硬組織薬理学分野) 現在に至る

主な受賞歴

平成 14 年 6 月 日本骨形態計測学会 学術賞

平成 20 年 10 月 歯科基礎医学会 ライオン賞

S-3

リアルタイム細胞分析システムを用いた新しい破骨細胞定量法

岩井 信市

昭和大学薬学部 社会健康薬学講座

破骨細胞は、骨粗鬆症治療に重要な標的細胞である。リアルタイムの破骨細胞定量は、重要である。近年、リアルタイム細胞分析 (RTCA) システムが、細胞形態を測定するために開発された。RTCA は、細胞の電気インピーダンスを測定し、セルインデックスとして定量化する。我々は、RTCA を用いてリアルタイムに破骨細胞形成を測定する新しい定量法を開発した。新しい定量法は、以下の利点がある：リアルタイムの定量、高い再現性、比較的平易で簡単な事、古典的なエンドポイント法との高い相関性。この新しいシステムは、骨粗鬆症に対する薬物の開発に寄与する可能性がある。

A new assay for osteoclast formation by real-time cell analysis system

Shinichi IWAI

**Department of Healthcare and Regulatory Sciences, Showa University School of Pharmacy,
Tokyo, Japan.**

Osteoclasts are important target cells for anti-osteoporosis therapies. It is important that we assay osteoclasts formation in real time. Recently, a real-time cell analysis (RTCA) system was developed to observe cell morphology. RTCA quantifies it as the cell index by monitoring electrical impedance of cells. We established a new assay of measuring osteoclast formation in real-time using RTCA. This new assay offers the following advantages: Real time monitoring, High reproducibility, Relatively simple and easy, High correlation with classic endpoint assays. It is possible that this new system can contribute to the development of osteoporotic medications.

略歴

平成 7 年 3 月 昭和大学医学部 卒業

平成 11 年 3 月 昭和大学医学部大学院修了 (薬理学専攻)

平成 11 年 4 月 昭和大学医学部第一薬理学 助手

平成 12 年 4 月 フロリダ大学獣医学部 研究員 (平成 14 年 3 月まで)

平成 17 年 10 月 昭和大学医学部第一薬理学 講師

平成 20 年 4 月 昭和大学医学部第一薬理学 准教授

平成 23 年 4 月 昭和大学医学部薬理学講座 准教授

平成 24 年 9 月 昭和大学薬学部 社会健康薬学講座 教授 (現在に至る)

主な受賞歴

平成 18 年 秋田武夫学術賞

In vivo バイオイメージングを用いた骨粗鬆症治療薬の薬効評価

菊田 順一

大阪大学 大学院医学系研究科 免疫細胞生物学

硬い石灰質に囲まれた骨組織の内部は、従来、生きたままでの観察が極めて困難であると考
えられていたが、我々は、組織深部の観察が可能な“二光子励起顕微鏡”を駆使して、マウスを
生かしたまま骨組織内の細胞動態をリアルタイムで観察するライブイメージング系を確立し
た。この技術を用いて、破骨細胞が実際に骨を壊す様子を可視化することに世界で初めて成功
し、破骨細胞による骨吸収制御メカニズムを解明するとともに、各種骨粗鬆症治療薬の薬効を
明らかにしてきた。本講演では、骨のバイオイメージング研究の成果と今後の展望について、
最新のイメージング画像とともに紹介する。

The effects of anti-osteoporosis drugs analyzed by in vivo bioimaging system

Junichi KIKUTA

**Department of Immunology and Cell Biology, Graduate School of Medicine, Osaka University,
Osaka, Japan**

Since bone is the hardest tissue in our body, it is almost impossible to visualize the inner
bone tissue in living animals. We have originally established an advanced imaging system for
visualizing living bone tissues with intravital two-photon microscopy. By means of this system,
we have recently succeeded in visualizing bone resorption of mature osteoclasts in living
bones *in vivo*. Here we show the latest data of intravital bone imaging, and also discuss the *in
vivo* effects of anti-osteoporosis drugs currently developed in the world.

【略歴】

平成 18 年 3 月：大阪大学医学部医学科 卒業

平成 18 年 4 月～平成 20 年 3 月：国立病院機構大阪南医療センター研修医

平成 20 年 4 月～平成 21 年 3 月：国立病院機構大阪南医療センター専修医(リウマチ科)

平成 21 年 4 月～平成 25 年 3 月：大阪大学大学院医学系研究科博士課程 修了

平成 24 年 4 月～平成 25 年 3 月：日本学術振興会特別研究員(DC2)

平成 25 年 4 月～現在：大阪大学大学院医学系研究科 免疫細胞生物学 助教

【受賞歴】

平成 26 年度 日本リウマチ学会 奨励賞

平成 26 年度 日本骨代謝学会 研究奨励賞

第 31 回 井上研究奨励賞

学会賞受賞記念講演

AL-1

ヒト歯根膜由来間葉系幹細胞の CD146 表面マーカーに関する研究

齋藤瑛子¹, 清水 典佳^{1,2}, 本田雅規³

¹ 日本大学歯学部 歯科矯正学講座, ² 日本大学歯学部 総合歯学研究所

³ 愛知学院大学歯学部 口腔解剖学講座

歯周組織再生治療に組織幹細胞を応用するには、さまざまな細胞群から幹細胞を同定し分取後、長期培養中におけるこの細胞の特性安定性を明らかにすることが必要である。現在では、純度の高い間葉系幹細胞を効率的に得るためには、細胞表面マーカーの違いに基づいて fluorescence-activated cell sorting (FACS) で分取する方法が広く用いられている。その中で、CD146 抗体はヒト歯根膜から間葉系幹細胞を分取するためのマーカーとして多用され、CD146 陽性細胞群は間葉系幹細胞としての特性である高い自己複製能と多分化能を有することが示されている。本研究では、ヒト歯根膜由来細胞の細胞表面マーカー CD146 の有用性を解明するために、CD146 発現が強く認められる CD146⁺細胞群と CD146 発現がみられない CD146⁻細胞群を FACS で分取し、間葉系幹細胞としての特性である自己複製能と多分化能を比較・解析した。また、両細胞群の長期培養中の CD146 発現の安定性についても併せて検討した。今後、侵襲が少なく採取可能な歯肉も有用な細胞源の 1 つとなる可能性があるため、特性の違いについても比較予定である。

CD146/MCAM Surface Marker for Identifying Human Periodontal Ligament-derived Mesenchymal Stem Cells

Yoko Saito¹, Noriyoshi Shimizu^{1,2}, and Masaki J. Honda³

¹Department of Orthodontics, Nihon University School of Dentistry

²Dental Research center, Nihon University School of Dentistry

³Department of Oral Anatomy, Aichi Gakuin University School of Dentistry

To apply tissue stem cells to periodontal regeneration, it is necessary to identify a stem cell from the crowd and to find out the stability of mesenchymal stem cells potential after sorting. A standard approach for isolation would be to use cell surface markers to identify these cells, which are effectively enriched in order to isolate stem cells. The CD146 marker is most commonly used to isolate PDLSCs from human periodontal ligament tissues (hPDL). Previous studies have shown that CD146-positive (CD146⁺) cells possess potencies of high self-renewal and multi-lineage differentiation. However, the capability and potency of mesenchymal stem cells (MSCs) in hPDL-derived CD146-negative (CD146⁻) cells have not been well established. In this study, CD146⁺ and CD146⁻ cells were isolated from hPDL and their properties, including their MSCs potential, were characterized. Since human gingival tissues that can be obtained easily may be a useful cell source, in the future we intend to compare differences in the characteristics of hPDL with human gingival tissues.

略歴 2013 年 3 月 日本大学大学院歯学研究科 卒業

2013 年 4 月 日本大学歯学部歯科矯正学講座 在籍

現在に至る

AL-2

遠赤外線エネルギーを放射するセラミックス(流紋岩)は骨形成を促進する
アルダルツォグト・ドルゴルスレン、山下菊治、関伸一郎、
徳島大学大学院医歯薬学研究部 口腔顎顔面形態学分野

遠赤外線エネルギーが骨形成に影響を与えるか否かを明らかにするために、骨芽細胞の分化と骨梁形成に及ぼす遠赤外線エネルギー照射の影響を解析した。その結果、in vitro の研究では、遠赤外線エネルギー照射によって、アルカリ性フォスファターゼと骨梁形成は促進され、骨吸収に關与する酸性フォスファターゼは抑制された。発現遺伝子解析では、Runx2, BSP, OCN, Col1a1 や OPN の遺伝子発現が亢進された。また、in vivo の研究では、移植体周辺部の骨形成は T50-F50 (チタン 50%と FIR セラミックス 50%) と F100 (FIR セラミックス 100%) 群で 4 週間後に有意に増加した。これらの結果から遠赤外線セラミックスによるエネルギー照射は骨芽細胞の分化と骨梁形成を促進することが明らかになった。

The Ceramics Radiating Far Infrared Ray Energy (Rhyolite) Promote the Formation of Bone
Aldartsogt Dolgorsuren, Kikuji Yamashita, Shinichiro Seki

Department of Oral and Maxillofacial Anatomy, Graduate School of Oral Sciences, Tokushima University

In order to make clear whether the FIR ceramics radiating FIR energy affect or not on the new bone formation, the experiments of in vivo and in vitro were carried out. The ALP activities and the area of calcification nodules increased on 4 weeks. The RT-PCR data showed that the genes expression of Runx2, Osterix, BSP, OCN, Col1a1 and OPN were activated. Bone mineral density (BMD mg/cm²) of implanted sites of T50-F50, T25-F75 and F100 groups were significantly enhanced after 4 weeks. These data show FIR energy radiation by the natural FIR ceramics promoted the new bone formation.

一般演題（口演）

O-1

LIPUS（低出力超音波）による間葉系幹細胞の分化能維持

楠山譲二^{1,2}、仙波伊知郎²、松口徹也¹

¹ 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 口腔生化学分野

² 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 口腔病理解析学分野

間葉系幹細胞(MSC)は多継代培養によって分化多能性を喪失することが知られている。本研究は MSC に低出力超音波(LIPUS)によるメカニカルストレスを加えながら継代培養し、MSC の骨分化能を維持できないか検討した。その結果、LIPUS を照射することで、継代による石灰化基質形成能の低下や骨分化マーカー遺伝子の発現減少が抑制され、MSC の骨分化能を維持できた。MSC を継代すると Nanog, Msx2 の発現が減少していったが、LIPUS 刺激はこれらの遺伝子発現も回復させた。更に LIPUS 刺激は Syk の強いリン酸化を誘導し、Syk 阻害剤は LIPUS によって誘導される Nanog の発現レベルの上昇を抑制した。MSC を LIPUS で刺激しながら培養することで、細胞継代による分化能低下を防ぐことができる可能性がある。

LIPUS (low-intensity pulsed ultrasound) helps to maintain the differentiation potency of mesenchymal stem cells

Joji Kusuyama^{1,2}, Ichiro Semba², Tetsuya Matsuguchi¹

1 Department of Oral Biochemistry, Kagoshima University, Graduate School of Medical and Dental Sciences

2 Department of Oral Pathology, Kagoshima University, Graduate School of Medical and Dental Sciences

Long-term culture of mesenchymal stem cell (MSC) is known to lose their stemness. In this study, we examined the new method to keep the osteogenic differentiation potency of MSCs by mechanical stress using low-intensity ultrasound (LIPUS). We found that LIPUS treatment inhibited the decreases of cell calcification and mRNA expressions of osteogenic marker genes during serial subculture of MSCs. Nanog and Msx2 expressions were also restored by LIPUS treatment. Moreover, LIPUS induced to phosphorylate Syk and the Syk-specific inhibitor suppressed LIPUS-induced Nanog expression. This results suggest that mechanical stimulation using LIPUS has the possibility to maintain the MSC differentiation potency.

チタンインプラントへの DNA/プロタミンレイヤー固定化が骨形成促進に与える影響

櫻井敏継¹, 早川 徹², 遠山岳史³, 吉成正雄⁴, 大久保力廣¹

¹鶴見大学歯学部有床義歯補綴学講座 ²鶴見大学歯学部歯科理工学講座

³日本大学理工学部物質応用化学科 ⁴東京歯科大学口腔科学研究センター

DNA/プロタミン複合体は新規な骨補填材として期待されている。本研究では、DNA/プロタミンレイヤーを固定化したチタンインプラントの骨形成能について、擬似体液浸漬実験とラット臼歯抜歯窩への埋入実験によって評価した。擬似体液浸漬実験では、チタンと比較して、DNA/プロタミンレイヤー固定化チタンへのアパタイト生成速度が向上することが確認された。動物埋入実験においても、DNA/プロタミンレイヤー固定化インプラントの方が、埋入3週間後で統計学的に有意に高い骨-インプラント接触率を示した。以上より、チタンインプラントへのDNA/プロタミンレイヤーの固定化によって、骨形成が促進される可能性が示唆された。

Bone response of DNA/protamine multilayer immobilized titanium implant

**Toshitsugu Sakurai¹, Tohru Hayakawa², Takeshi Toyama³, Masao Yoshinari⁴,
Chikahiro Ohkubo¹**

¹Department of Removable Prosthodontics, Tsurumi University School of Dental Medicine

²Department of Dental Engineering, Tsurumi University School of Dental Medicine

³Department of Materials and Applied Chemistry, College of Science and Technology, Nihon University

⁴Oral Health Science Center, Tokyo Dental College

DNA/ protamine complexes are expected as a new bone substitute material. In this study, we evaluated the bone formation of DNA/protamine multilayer immobilized titanium implant by simulated body fluid (SBF) immersion experiments and implantation experiments into the extracted sockets of rat molar. Apatite deposition was more progressed onto the surface of DNA/protamine multilayer immobilized titanium compared to non-treated titanium implant in SBF immersion experiments. Animal implantation experiments showed that DNA/protamine multilayer immobilized titanium provided significantly higher bone-to-implant contact ratio at three weeks after the implantation. These results suggest that the immobilization of DNA/protamine multilayer will accelerate the new bone formation.

フィブロネクチン固定化チタンインプラントの骨形成能

廣田正嗣¹, 新保秀仁², 大久保力廣², 遠山岳史³, 早川 徹¹

¹鶴見大学歯学部歯科理工学講座

²鶴見大学歯学部有床義歯補綴学講座

³日本大学理工学部物質応用科学科

チタンインプラント表面に細胞接着性タンパク質であるフィブロネクチンをトレスルクロリド法にて固定化し, ウサギ脛骨に 12 週間埋入して, 骨形成能を評価した. フィブロネクチン固定化チタンインプラントは, 未処理のインプラントに比較し, 新生骨形成がより明瞭に観察された. また定量的な組織計測を行った結果, フィブロネクチン固定化インプラントの骨-インプラント接触率およびインプラント周囲の新生骨量は統計学的に有意に高い値であった. 以上, チタン上に固定化されたフィブロネクチンが骨芽細胞の初期付着を向上させた結果, 良好な骨形成が得られたものと推察された.

Bone formation on fibronectin immobilized titanium implant

Masatsugu Hirota¹, Hidemasa Shimpo², Chikahiro Ohkubo², Takeshi Toyama³, Tohru Hayakawa¹

¹Department of Dental Engineering, Tsurumi University School of Dental Medicine

²Department of Removable Prosthodontics, Tsurumi University School of Dental Medicine

³Department of Materials and Applied Chemistry, College of Science and Technology, Nihon University

Fibronectin is a cell adhesive protein. In the present study fibronectin was immobilized onto titanium implant using tresyl chloride-activated technique, and bone formation was evaluated after the implantation into the rabbit tibiae for 12 weeks. Greater amount of new bone was clearly observed for fibronectin immobilized titanium compared with non-treated titanium.

Histomorphometrical evaluations showed a significantly higher bone-to-implant contact ratio and bone mass on fibronectin immobilized titanium implant. It is suggested that the fibronectin immobilized titanium implant showed better bone formation because of the improvement of initial attachment of osteoblasts.

低出力超音波刺激は骨芽細胞の AT1 受容体を介した LPS 誘導性 IL-1 α 産生を抑制する
 長尾麻由¹、間中総一郎²、田邊奈津子^{3,4}、内藤昌子^{3,4}、尾崎愛美¹、鈴木直人^{3,4}、前野正夫^{3,6}、
 佐藤秀一^{2,7}

¹ 日本大学大学院歯学研究科歯学専攻応用口腔科学分野, ² 日本大学歯学部歯科保存学第Ⅲ講座,
³ 日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門, ⁴ 日本大学歯学部生化学講座, ⁵ 日本大学歯学
 部解剖学第Ⅰ講座, ⁶ 日本大学歯学部衛生学講座, ⁷ 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医
 療研究部門

低出力超音波 (LIPUS) は, LPS 刺激で増加した骨芽細胞の炎症性ケモカインを抑制する事が
 報告されている。しかし, LPS で誘発された IL-1 α に及ぼす LIPUS 刺激の影響やその詳細なメ
 カニズムは明らかにされていない。そこで, LPS で炎症を惹起した骨芽細胞が LIPUS に及ぼす
 影響を細胞生物学的に検討した。LIPUS は, LPS によって増加した IL-1 α の発現をアンジオテ
 ンシン受容体タイプ 1 (AT1 受容体) を介してコントロールレベルに減少させた。よって,
 LIPUS は, 骨芽細胞の AT1 受容体を介して LPS によって惹起された IL-1 α 産生を抑制する可能
 性が示唆された。

Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) inhibits LPS-induced IL-1 α production cytokines via
 angiotensin receptor type 1 in osteoblasts.

Mayu Nagao¹, Souichirou Manaka², Natsuko Tanabe^{3,4}, Masako Naito^{3,5}, Ozaki Manami¹,
 Naoto Suzuki^{3,4}, Masao Maeno^{3,6}, Shuichi Sato^{2,7}

¹Division of Applied Oral Sciences, Nihon University Graduate School of Dentistry,

²Department of Periodontology Nihon University School of Dentistry

³Division of Functional Morphology, Dental Research Center, Nihon University School of
 Dentistry, ⁴Department of Biochemistry Nihon University School of Dentistry, ⁵ Department of
 Anatomy Nihon University School of Dentistry, ⁶Department of Oral Health Sciences Nihon
 University School of Dentistry, ⁷ Division of Advanced Dental Treatment, Dental Research
 Center, Nihon University School of Dentistry

Previous reports have shown that LIPUS is one of the mechanical stimulation inhibits
 inflammatory chemokine in response to the stimulation by LPS. However, the effect of LIPUS to
 LPS-induced IL-1 α and this mechanism has not been clarified. We have examined this influence
 like cellular biology. LIPUS treatment inhibited the LPS-induced mRNA and protein expression
 of IL-1 α on the control level. Furthermore, LIPUS inhibits IL-1 α are increased to the only LPS
 level by the angiotensin receptor type 1 (AT1 receptor) antagonist. These results suggest that
 LIPUS inhibits the LPS-induced IL-1 α via AT1 receptor in osteoblasts.

多形腺腫における YAP と CCN2 の発現

小野早和子¹, 中野敬介¹, 高嶋清文¹, 河合穂高¹, 吉田沙織¹, 浜田芽衣¹, 辻極秀次²,
長塚 仁¹

¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 口腔病理学分野

²岡山理科大学理学部臨床生命科学科 組織病態学研究室

YAP は腫瘍細胞の分化や間質の性状に影響を与える因子である。今回、多様な細胞分化を示し上皮と間葉成分の混在する多形腺腫における YAP の機能についてその関連因子である CCN2 と共に免疫組織化学的に検討した。腫瘍組織では実質全体に YAP と CCN2 の陽性像がみられた。特に充実性腫瘍胞巣の辺縁や索状に増殖する胞巣で両者は強陽性像を示した。一方、腫瘍を取り囲む線維性間質では YAP、CCN2 共に陽性像に乏しかった。導管上皮成分では YAP と CCN2 の発現は部位により様々であったが、間質成分への移行を示す筋上皮細胞成分、軟骨様細胞では YAP、CCN2 とともに強陽性像を示した。以上のことから YAP と CCN2 は共同し、腫瘍性間質の誘導や腫瘍細胞の分化に関与することが示唆された。

Immunohistochemical expression of YAP and CCN2 in pleomorphic adenoma

Sawako Ono¹, Keisuke Nakano¹, Kiyofumi Takabatake¹, Hotaka Kawai¹, Saori Yoshida¹, Mei Hamada¹, Hidetsugu Tsujigiwa², Hitoshi Nagatsuka¹

¹Department of Oral Pathology and Medicine, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

²Laboratory of Histopathology, Department of Life Science, Faculty of Science, Okayama University of Science

YAP and its downstream target CCN2 were examined pleomorphic adenoma cases using immunohistochemistry. YAP and CCN2 were detected in most neoplastic cells. Intense positive reactions were detected in the peripheral cells of solid tumor nest and funicular tumor nests. Fibrous connective tissue surrounding tumor mass was almost negative for YAP and CCN2. Tumor cells adjacent to myxomatous tissue and chondrocyte-like cell have intense positive reactions of YAP and CCN2. These data suggested that YAP and CCN2 were involved in the mesenchymal transition and cell differentiation of tumor cells.

O-6

GFP 骨髄移植マウスを用いた、異所性骨形成過程における骨髄由来細胞の役割の検討

松田 寛之¹、辻極 秀次²、高島 清文¹、伊藤 聡¹、藤井 昌江¹、中野 敬介¹、
長塚 仁¹

¹岡山大学医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻 口腔病理学分野

²岡山理科大学臨床生命科学科 組織病態学研究室

骨形成過程では多様な細胞が関与するが、骨髄由来細胞の役割や幹細胞の由来については不明な点が多い。GFP 骨髄移植マウスの皮下・筋組織に、脱灰した骨組織 (IBM) に BMP を含浸させたものを埋入し、骨形成における骨髄由来細胞の関与や骨形成に関わる細胞について検討した。皮下と比較して、筋組織に埋入した IBM 周囲には早期から多数の GFP 陽性細胞がみられた。筋組織周囲では早期から軟骨形成・骨形成がみられた。骨細胞・骨芽細胞は GFP 陰性、破骨細胞や線維芽細胞の一部は GFP 陽性であった。骨髄由来幹細胞の骨芽細胞への分化は確認されなかったが、骨形成初期の微小環境形成に関して骨髄由来幹細胞が重要な役割を担っていることが示唆された。

The Role of Bone Marrow-Derived Cells During the Bone formation

Hiroyuki Matsuda¹, Hidetsugu Tsujigiwa², Kiyofumi Takabatake¹, Satoshi Ito¹,
Masae Fujii¹, Keisuke Nakano¹, Hitoshi Nagatuka¹

¹Department of Oral Pathology and Medicine, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University

²Laboratory of Histopathology, Department of Life Science, Faculty of Science, Okayama University of Science

We investigated bone marrow-derived cells in bone formation. Bone marrow-derived cells were traced using the GFP bone marrow transplantation model. Bone marrow cells from GFP mice were transplanted into wild mice. After transplantation, we inserted BMP added IBM (insoluble bone matrix) under the skin and muscle. Compared with skin, there were many BMP-positive cells around the IBM in muscle. Osteoblasts and osteocytes were GFP-negative, osteoclasts were GFP-positive. Some of fibroblasts were also GFP-positive. The results indicated that bone marrow-derived cells might not differentiate into osteoblasts. The role of bone marrow-derived cells might be limited to adjustment of the microenvironment in early stage.

一般演題（ポスター）

インプラント蛋白(チタンに結合して骨を造成する蛋白)の発見とその後の展開

久保木芳徳¹, 古澤利武², 八上公利³, 蔵崎正明¹, 戸倉清一¹,

¹ 北大・院・地球環境, ² 山形大学・物質化学工学, ³ 松本歯科大学・口腔インプラント科

チタンが人工関節と人工歯根に広く利用されている理由は、「チタンと生きた骨が、強固に結合する」という60年前の偶然のブレノマルクの発見である。しかしなぜ「生きた骨」とチタン結合するかという生化学的根拠は解明されていなかった。一方、この結合は進行が遅いことが応用面での難点でもある。私たちは根本的解決には、結合の生化学的機構解明が必須と考えてチタンと蛋白との反応を追求した結果、骨中の多機能リン蛋白であるSIBLINGファミリー蛋白がチタンに結合して不動化し、そこへ骨芽細胞が動員されて効率よく骨形成されることを明らかにした。実際、骨のチタン結合性蛋白をチタンにコートして骨に埋植すると1週目の骨形成量が非コート群の100倍以上に増加した(Kuboki et al: Biomed Mat Eng, 22: 283-288, 2012 and 24: 1539-1548, 2014)。今回は、この新発見の臨床的応用の基本戦略について報告する。

Discovery of titanium-binding and bone-promoting proteins (Implant proteins) and its clinical application.

Yoshinori Kuboki¹, Toshitake Furusawa², Kimitoshi Yagami³, Masaaki Kurasaki¹, Seiichi Tokura¹

¹Grad Sch Earth and Environmental Sci, Hokkaido University, Sapporo Japan,

²Grad Sch of Sci and Tech Yamagata University, Yonezawa, Japan,

³Dep Oral Implantology, Matsumoto Dental Univ, Shiobara, Japan

Titanium is widely used ever since Branemark's accidental discovery in 1959 that titanium strongly binds with "living bone". But the biochemical mechanism behind the strong binding is largely unknown. We have discovered that phosphoproteins generally bind with titanium and the phosphoproteins extracted from bone (SIBLING protein family) induced highly active bone formation when they were implanted into rat bone with a titanium device. Thus we proposed a "phosphoprotein theory" for the mechanism of the strong binding between bone and titanium. (Kuboki et al: Biomed Mat Eng, 22: 283-288, 2012 and 24: 1539-1548, 2014). Aim of this study is to explore the strategy for dental and orthopedic application of these proteins and its derivatives.

脱灰象牙質マテリアルの生化学的分析

伊藤勝敏¹、村田 勝¹、草野 薫¹、Kim, Y.K.²、Um, I.W.³、Kabir, M.A.¹、永易裕樹¹

¹ 北海道医療大学 歯学部 生体機能・病態学系 顎顔面口腔外科学分野

² Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Section of Dentistry, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam, Korea

³ Korea Tooth Bank, Seoul, Korea

歯槽骨の再生に用いる移植材料として、自家骨や人工骨とともに、自家脱灰象牙質 (DDM)がある。DDM は、患者の抜去歯を用いて作製されるため、自家骨のような採骨の侵襲がない。しかし、用いられる抜去歯の保存状態や調整方法によって含有タンパク質量に差があるかはわかっていない。本研究では、異なるプロセスを得た DDM から抽出されたタンパク質を生化学的に分析した。その結果、即時冷凍保存された抜去歯由来 DDM からは BMP-2 が検出されたが、保存状態によってはほとんどタンパク質が検出されないものもあった。よって、DDM の含有タンパク質量は、保存状態や調整方法により影響を受けることが示唆された。

Biochemical analysis of materials for demineralized dentin matrix

Katsutoshi Ito¹, Masaru Murata¹, Kaoru Kusano¹, Young-Kyun Kim², In-Woong Um³, Muhammad Arafat Kabir¹, Hiroki Nagayasu¹

¹ Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

² Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Section of Dentistry, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam, Korea

³ Korea Tooth Bank, Seoul, Korea

It is known autologous demineralized dentin matrix (DDM) is the graft material for regeneration of alveolar bone in addition to autologous bone and artificial bone. DDM is less-invasive compared to autologous bone because it is made from extracted teeth of patient. However, it is unknown whether the amounts of including proteins in teeth depend on the state and method of preparation or not. In this study, we made DDM from different states and methods, and the proteins extracted from DDM were analyzed biochemically. In the results, BMP-2 was detected in the immediate-frozen teeth, but little proteins were detected in the other states. It is suggested amounts of including proteins in DDM are affected by states and methods.

ハニカム β -TCP の孔径による硬組織再生制御

于 湊¹、高嶋清文¹、辻極秀次²、伊藤 聡¹、松田寛之¹、信長ひかり¹、中野敬介¹、
長塚 仁¹

¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 口腔病理学分野

²岡山理科大学臨床生命化学科 組織病態学研究室

骨軟骨再生において様々な人工生体材料が使用されている。しかし、人工生体材料の幾何学構造が細胞に及ぼす影響に着目した研究は少なく、詳細は不明である。そこで本研究では磷酸三カルシウム (TCP) により細胞外微小環境を再現し、その幾何学構造が骨軟骨組織形成過程に与える影響を検討した。孔径 75、300、500、1600 μ m のハニカム β -TCP に BMP-2 を含有させ、ラット大腿部筋肉内に埋入、3週間後に摘出、解析した。孔径 75 μ m では、孔内を充填するように軟骨、孔径 300 μ m および 500 μ m では骨形成を認めた。孔径 1600 μ m では孔内中央部に孤立した骨組織形成が認められた。以上のことからハニカム β -TCP の孔径を変化させることにより骨軟骨組織形成制御が可能であることが示唆された。

Effect of different pore size honeycomb β -TCP on hard tissue regeneration

**Yu Song¹, Takabatake Kiyofumi¹, Tsujigiwa Hidetsugu², Ito Satoshi¹, Matsuda Hiroyuki¹,
Nobunaga Hikari¹, Nakano Keisuke¹, Nagatsuka Hitoshi¹**

**¹Department of Oral Pathology and Medicine, Graduate School of Medicine, Dentistry and
Pharmaceutical Sciences, Okayama University**

²Department of Life Science, Faculty of Science, Okayama University of Science

We investigated the effect of geometry and microstructure of tricalcium phosphate(TCP) on bone and cartilage regeneration. Honeycomb TCP which through-holes' diameters are 75,300,500,1600 μ m loaded with BMP-2 were implanted into rats' intramuscle. We analyzed histologically the implanted TCP after postoperative 3 weeks. Through-holes of 75 μ m TCP were filled with cartilage. Bone formation was found in 300 μ m and 500 μ m TCP, and we also found bone in the center of the through-hole of 1600 μ m TCP. Thus our result suggested we can control the hard tissue regeneration by changing pore size of honeycomb TCP.

CRP が脂肪細胞の細胞外基質タンパク分解酵素とその内因性阻害剤の発現に及ぼす影響

中井 久美子^{1,2}, 川戸 貴行^{1,2}, 田中 秀樹^{1,2}, 森田 十誉子^{1,3}, 前野 正夫^{1,2},

¹ 日本大学歯学部衛生学講座

² 日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門

³ (公財) ライオン歯科衛生研究所

重度の歯周病罹患者の血中には，C 反応性タンパク (CRP) が増加することが知られている。また，疫学 研究では，歯周病と内蔵脂肪蓄積を基盤とするメタボリックシンドロームとの関連性が報告されている。本研究では，脂肪組織の細胞外基質 (ECM) タンパク代謝に着目し，脂肪細胞を CRP で刺激後のマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) とその内因性阻害剤 (TIMP) の発現を調べた。CRP 刺激で MMP-1, -2, -3, -9, -11, -13, -14 および TIMP-1 の発現は増加し，TIMP-2 発現は変化しなかった。CRP は，複数種の MMP 発現増加を介して ECM 代謝を分解系に傾け，脂肪組織の領域の拡がりに関与すると考えられた。

Effects of CRP on the expression of matrix metalloproteinases and its inhibitors in adipocytes

Kumiko Nakai^{1,2}, Takayuki Kawato^{1,2}, Hideki Tanaka^{1,2}, Toyoko Morita^{1,3}, Masao Maeno^{1,2}

¹ Department of Oral Health Sciences, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

² Division of Functional Morphology, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

³ The Lion Foundation for Dental Health, Tokyo, Japan

Elevated blood levels of C-reactive protein (CRP) have been reported in patients with severe periodontitis. Epidemiological studies have indicated the association between periodontitis and metabolic syndrome, which arises from visceral fat-type obesity. In this study, we focused on turnover of extracellular matrix (ECM) protein in adipose tissue and examined the effects of CRP on the expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and its inhibitors (TIMPs). CRP increased the expression of MMP-1, -2, -3, -9, -11, -13, -14 and TIMP-1, but not TIMP-2. These results suggest that CRP inclines ECM turnover to the resolution, which may be involved in spread of adipose tissue area, via upregulation of multiple MMPs in adipocyte.

Porphyromonas gingivalis を口腔感染させたマウスにおける歯槽骨吸収を伴った炎症性歯肉の粘膜免疫応答について

河野哲朗¹、小林良喜²、玉村亮¹、菅野岳志¹、落合智子²、岡田裕之¹

¹ 日本大学松戸歯学部 解剖学Ⅱ講座

² 日本大学松戸歯学部 微生物免疫学講座

口腔における骨代謝に影響している免疫系細胞や分子機序は依然として解明されていない。今回、我々はマウスの歯槽骨吸収を伴う炎症性歯肉の粘膜免疫応答を明らかにする事にした。歯槽骨吸収を起こす歯周疾患モデルマウスは *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) を経口感染させ確立させた。マウスの歯肉単核細胞(GMCs)を分離し、FACS 解析を行った。その結果、CD11c⁺B220⁺樹状細胞(pDCs)に ICAM-1 発現の増加を認め、また CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺を示す制御性 T 細胞(Treg)比率の上昇も認めた。以上の結果から、*P. gingivalis* 口腔感染による歯槽骨吸収には pDCs および Treg が関与していることが示唆された。

Characterization of mucosal immunity in mouse inflamed gingiva with alveolar bone loss by *Porphyromonas gingivalis* oral infected

Tetsuro Kono¹, Ryoki Kobayashi², Ryo Tamamura¹, Takeshi Kanno¹, Tomoko Ochiai², Hiroyuki Okada¹

¹Department of Histology , Nihon University School of Dentistry at Matsudo

²Department of Microbiology and Immunology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

Cellular and molecular mechanisms of the immune system influencing oral bone metabolism remain to be elucidated. In this study, we characterized the mucosal immune cells in the inflamed gingiva of mice with alveolar bone reduction. A murine periodontal disease model with alveolar bone loss was established by oral infection with *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*). Gingival mononuclear cells (GMCs) were isolated and subjected to FACS analysis. The frequencies of ICAM-1 expressing CD11c⁺B220⁺ dendritic cells (pDCs) were increased in inflamed gingival tissues with bone loss. Further, CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T (Treg) cells were increased in the experimental group. These results show the potential roles of pDCs and Treg cells for the induction and regulation of alveolar bone loss in *P. gingivalis* oral infection.

実験的咬合性外傷における歯根膜中 HSP47 の発現推移

三村泰亮¹、高谷達夫¹、中野敬介²、松田紗依佳¹、富田美穂子¹、岡藤範正¹、藤井健男¹、川上敏行¹

¹ 松本歯科大学 大学院歯学独立研究科

² 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科

シャペロンとは、他のタンパク質がフォールディングをして機能を獲得するのを助けるタンパク質の総称で、HSP47 は、コラーゲン生成に必須な分子シャペロン機能を有する。そこで、外傷性咬合を誘発するマウスの実験モデルを開発し、マウスの臼歯根分岐部の歯根膜における HSP47 の発現状況を 14 日後まで観察した。さらに、同様に 4 日間咬合性外傷を加えておいた歯根膜を 30 日後まで追究した。その結果、咬合性外傷を加え続けた歯根膜では HSP47 陽性反応は増強し続けた。一方で、4 日間のみ咬合性外傷歯根膜では一旦増強した後に急激な減退を示した。以上より咬合性外傷が生じた歯根膜では、損傷した組織を修復するため HSP47 の活動が活発化したと考えられた。

Immunohistochemical Expression Trend of HSP47 in the Periodontal Membrane due to Experimental Occlusal Trauma

Hiroaki Mimura¹, Tatsuo Takaya¹, Keisuke Nakano², Saeka Matsuda¹, Mihoko Tomida¹, Norimasa Okafuji¹, Takeo Fujii¹, Toshiyuki Kawakami¹

¹ Matsumoto Dental University Graduate School of Oral Medicine

² Okayama University Graduate School of Medicine Dentistry and Pharmaceutical Sciences

HSP47 possesses the molecular chaperone function indispensable to collagen production. We investigated occlusal trauma mouse model and HSP47 expression circumstance of periodontal ligament (PDL) at furcation area in molar teeth until 14 day later. Furthermore, we examined PDL to which occlusal trauma has been added for 4 days until 30 days later. In the result, HSP47 positive reaction continues to increase by the added occlusal trauma at PDL. On the other hand, HSP47 significantly decrease after increasing HSP47 at once with occlusal traumatic PDL only for 4 days. It indicated that the remodeling of PDL with HSP47 acceleration was evoked from the PDL of occlusal trauma.

メカニカルストレスが惹起するマウス歯根膜における HSP70 の免疫組織化学的発現推移

村岡理奈¹, 松田浩和¹, 山田一尋¹, 中野敬介^{2,3}, 川上敏行³

¹ 松本歯科大学 歯科矯正学講座

² 岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 口腔病理病態学講座

³ 松本歯科大学大学院 硬組織疾患病態解析学

マウス歯根膜にメカニカルストレスを 3 時間負荷後に解除した際の発現推移を免疫組織化学的に追究した。実験群のストレス負荷直後の牽引側歯根膜において HSP70 の発現増強があった。ストレス解除 20 分後には圧迫側歯根膜にも HSP70 の発現があり、経時的に発現が強くなっていった。3 時間後では圧迫側と牽引側ともに HSP70 の発現増強が認められた。3 日後では牽引側歯根膜における HSP70 の発現強度よりも、圧迫側における発現が強く、1 週間後も同じ傾向を示した。以上より、HSP70 は歯根膜組織の細胞傷害に対する回復反応に早期より寄与し、一方で、発現時間軸ごとに HSP70 の発揮する機能も異なる事を強く示唆した。

Immunohistochemical trend of HSP70 Expression in mouse periodontal tissues due to orthodontic mechanical stress

Rina Muraoka¹, Hirokazu Matsuda¹, Kazuhiro Yamada¹, Keisuke Nakano^{2,3}, Toshiyuki Kawakami³

¹ Department of Orthodontics, Matsumoto Dental University School of Dentistry

² Department of Oral Pathology and Medicine, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

³ Hard Tissue Pathology Unit, Matsumoto Dental University Graduate School of Oral Medicine

We examined an expression of HSP70 change immunohistochemically when we removed mechanical stress after load to mouse periodontal ligament (PDL) for 3 hours. In the experimental group, the PDL cells of the tension side were strongly expression of HSP70. These were strongly to pressure side on 20 minutes after removed stress and the it was same strongly both pressure side and tension side in 3 hours later. These results suggest that the role of the HSP70 contributes to the recovery reaction to cell injury through collagen composition of the PDL. The date suggest that the different HSP70 functions showed every temporal axes which developed.

実験的咬合性外傷における歯周組織変化

高谷達夫¹、三村泰亮¹、松田紗依佳¹、中野敬介³、辻極秀次²、富田美穂子¹、

岡藤範正¹、藤井健男¹、川上敏行¹

¹松本歯科大学 大学院歯学独立研究科

²岡山理科大学 理学部 臨床生命科学科

³岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科

実験モデルのマウス (ddY/骨髄移植モデル) の臼歯根分岐部における歯周組織の細胞動態を病理組織学的、免疫組織化学的および細胞動態を統計的に検討した。実験 4 日群の根分岐部歯根膜は、歯根膜の充血傾向と細胞の密度が上昇していた。同部の細胞核占有率は、実験 4 日群で増加していた。Ki67 の免疫歯式学的検討では、実験 4 日群で細胞陽性率が顕著に増加し、実験 7 日群においても有意であった。GFP 細胞核陽性率は、病理組織化学的細胞核占有率や Ki67 細胞核陽性率のピークより若干遅れて、実験 7 日群で著明であった。これらの所見から細胞活性の亢進を伴う経時的な歯根膜の改造現象が実験的咬合外傷の 4 日から急激に誘起されることが示唆された。

Changes of Periodontal Ligament in an Experimental Occlusal Trauma Model

Tatsuo Takaya¹, Hiroaki Mimura¹, Saeka Matsuda², Keisuke Nakano³, Hidetsugu Tsujigiwa², Mihoko Tomida¹, Norimasa Okafuji¹, Takeo Fujii¹, Toshiyuki Kawakami¹

¹ Matsumoto Dental University Graduate School of Oral Medicine

² Department of Life Science, Faculty of Science, Okayama University of Science

³ Okayama University Graduate School of Medicine Dentistry and Pharmaceutical Sciences

We investigated changes of periodontal ligament (PDL) by means of histopathological, immunohistochemical and photographic analysis methods in experimental mouse model (ddY/GFP). PDL cells at furcation area of molar teeth in the experimental group on day 4 showed a proliferation tendency of PDL cells and increased within the day 4 specimens. Ki67 positive nuclei showed a prominent increase in the group on day 4 and 7. Green Fluorescent Protein (GFP) positivity also revealed cell movement but was slightly slow compared to that of Ki67. It indicated that restoration of mechanism seemed conspicuous by osteoclasts and macrophages from bone-marrow-derived cells for the PDL at the furcation area.

排膿散及湯の歯周病に対する基礎医学的研究

王 宝禮¹、今村泰弘²、益野一哉¹、坂井大吾³、本田義知⁴、岡崎定司³

¹大阪歯科大学歯科医学教育開発室、²松本歯科大学歯科薬理学講座、

³大阪歯科大学欠損歯列補綴咬合学講座、⁴大阪歯科大学中央歯学研究所

歯周病治療への薬物療法として、排膿散及湯を投与する臨床研究が散見する。本研究において排膿散及湯は、歯肉線維芽細胞からの一部のリポ多糖誘導性炎症性サイトカインの産生を増強した。この結果は、排膿散及湯が自然免疫系の増強や免疫細胞遊走・細菌の貪食を促進している可能性を示唆する。一方、COX を低下させたことから、抗炎症作用をもつと考えられる。排膿散及湯の構成成分である芍薬，甘草，桔梗には鎮痛作用があり、生姜，大棗には鎮静作用がある。甘草の主要薬効成分であるグリチルリチン酸には強い抗炎症作用がある。以上から排膿散及湯の処方は、歯周炎に対して複合的な作用を持つ有用な治療法になりうる事が示唆された。

Basic medical research on Hainosankyuto against periodontal disease

Pao-Li Wang¹, Yasuhiro Imamura², Kazuya Masuno¹, Daigo Sakai³, Yoshitomo Honda⁴ Joji Okazaki³

¹Department of Innovation in Dental Education, Osaka Dental University

²Department of Dental Pharmacology, Matsumoto Dental University

³Department of Removable Prosthodontics and Occlusion, Osaka Dental University

⁴Institute of Dental Research, Osaka Dental University

There are some studies using Hainosankyuto as pharmacotherapy for periodontal disease. In the present study, we demonstrated that Hainosankyuto increased the expression of some LPS-induced inflammatory cytokines from gingival fibroblasts, suggesting that it possibly enhance natural immunity, immune cell migration, and immune activation for phagocytosis. Meanwhile, Hainosankyuto reduced the COX expression, indicating the potential anti-inflammatory effect. Components of Hainosankyuto are known to show analgesic action and pain relief effect. A line of these results suggest that the administration of Hainosankyuto could be useful for the treatment of periodontal disease through multiple pharmacological effects.

オゾンの新規薬理作用の解明

益野一哉¹、今村泰弘²、坂井大吾³、牧田佳真⁴、本田義知⁵、藤原眞一⁴、岡崎定司³、
王 宝禮¹

¹大阪歯科大学歯科医学教育開発室、²松本歯科大学歯科薬理学講座、

³大阪歯科大学欠損歯列補綴咬合学講座、⁴大阪歯科大学化学教室

⁵大阪歯科大学中央歯学研究所

オゾンは、食品、農業、医療分野など多方面に利用されている。最近、歯科治療中にオゾンを用いた場合に、予後が良いという臨床家の声が多い。本研究は、オゾンの新規薬理作用の解明を目的とした。その結果、オゾンによる炎症性サイトカイン産生抑制を通じた抗炎症作用が確認できた。更に、(1)齲蝕・歯周病の代表的菌群への殺菌効果、(2)口臭の主な原因物質である硫化水素・メチルメルカプタンの濃度測定に基づく口臭抑制効果、(3)止血の短縮時間の比較によるエピネフリン同等の止血効果、が確認できた。以上から、オゾンは、歯周外科・インプラント治療など口腔外科的治療への歯科医療に期待の大きい物質と考える。

To search for a new pharmacological effect of Ozone

Kazuya Masuno¹, Yasuhiro Imamura², Daigo Sakai³, Yoshimasa Makita⁴, Yoshitomo Honda⁵,
Shin-ichi Fujiwara⁴, Joji Okazaki³, Pao-Li Wang¹

¹Department of Innovation in Dental Education, Osaka Dental University

²Department of Dental Pharmacology, Matsumoto Dental University

³Department of Removable Prosthodontics and Occlusion, Osaka Dental University

⁴Department of Chemistry, Osaka Dental University

⁵Institute of Dental Research, Osaka Dental University

Ozone is used in many fields, such as food and medical fields. Recently, many dental clinicians remark that the usage of ozone in dental treatment makes prognosis better. The study was designed to elucidate the new pharmacological function of ozone. We verified that ozone has anti-inflammatory effect with suppression of inflammatory cytokine production. Additionally, we confirmed other three effects: (1) the bactericidal effect to typical bacteria of caries and periodontal disease at the adequate concentration of ozone, (2) the reducing halitosis with suppression of methyl-mercaptan production, and (3) the hemostatic effect equal to epinephrine in shortening hemostasis time. Those results suggest that ozone is useful for dental surgery including dental implant treatment.

ヒト歯肉線維芽細胞を利用した歯周病に対するプラセンタの薬理効果の解明

本田義知¹、今村泰弘²、益野一哉³、王 宝禮³

¹大阪歯科大学中央歯学研究所、²松本歯科大学歯科薬理学講座、³大阪歯科大学歯科医学教育開発室

哺乳類の胎盤を指す「プラセンタ」は、歯周病の改善を促すことが臨床的に多数報告されている。しかしながら、細胞レベルでの解析は乏しく、その機序は殆ど明らかになっていない。本研究では、豚由来プラセンタエキス純末が、ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) の組織再生・炎症に関わるタンパク産生に及ぼす影響を *in vitro* にて評価した。その結果、適量のプラセンタエキス純末は、HGF のI型コラーゲン産生を増強し、リポ多糖誘導性炎症性サイトカイン産生を抑制することが明らかになった。これらの結果は、プラセンタエキス純末の薬理機序において、同物質が HGF の細胞機能を制御する事で、歯周病改善を促している可能性を示唆する。

Elucidating the pharmacologic effect of a placenta against periodontitis using human gingival fibroblasts

Yoshitomo Honda¹, Yasuhiro Imamura², Kazuya Masuno³, Pao-Li Wang³

¹Institute of Dental Research, Osaka Dental University

²Department of Dental Pharmacology, Matsumoto Dental University

³Department of Innovation in Dental Education, Osaka Dental University

Placental extract is known to be a prospective medicine for systematic and oral diseases. However, little is known about its mechanisms on treatment of periodontal diseases, thereby hindering its reliable application in dentistry. In the present study, we demonstrated that a placental extraction, isolated from porcine tissue, increased collagen type-1 production and hindered pro-inflammatory cytokine secretion from primary human gingival fibroblasts (HGFs) *in vitro*. The results suggest that the mechanism underlying the therapeutic effect of placenta against periodontal disease is partially due to modulation of the cellular function of HGFs.

ニコランジルによる破骨細胞分化過程におよぼす抑制効果

岩城 太、 天野 均、 大浦 清

大阪歯科大学 薬理学講座

ニコランジルは ATP 感受性 K チャネルを開き、 K^+ が細胞膜外に流出、過分極することで Ca チャネルが閉じ、細胞内 Ca^{2+} を低下させる。破骨細胞の分化や活性化には細胞内カルシウム動態が深く関与している。本研究は、ニコランジルの作用による破骨細胞分化過程における抑制効果を明らかにする目的で行った。ニコランジル添加群では、TRAP 陽性多核細胞数と F アクチンリングを有する細胞数はともに濃度依存的に減少した。骨吸収窩実験では骨吸収面積が濃度依的に減少することを観察した。ニコランジルには *in vitro* での破骨細胞の分化過程を抑制する効果があることがわかり、骨粗鬆症治療薬となる可能性が示唆された。

Nicorandil inhibits differentiation of osteoclasts *in vitro*.

Futoshi Iwaki, Hitoshi Amano, Kiyoshi Ohura

Department of Pharmacology, Osaka Dental University

Nicorandil activates K^+ ATP channel, causing K^+ efflux. This hyperpolarizes the cell, which inactivates voltage-gated calcium channels and reduces free intracellular Ca^{2+} . It is well known that Ca^{2+} oscillation is important for RANKL-induced osteoclastogenesis. We examined whether nicorandil could inhibit differentiation of osteoclasts *in vitro*. The number of TRAP positive multinucleated cells and F-actin rings displayed a decrease in dose-dependent fashion in the nicorandil group. Inhibition of bone resorption was observed in dose-dependent fashion in pit formation assay. This study demonstrated that nicorandil inhibits differentiation of osteoclasts *in vitro*. These results suggest that there is a possibility that nicorandil might be osteoporosis treatment.

実験的コレステリン肉芽腫における骨髄間葉細胞由来の血管内皮細胞

松田紗衣佳¹, 中野敬介², 正村正仁¹, 大須賀直人¹, 落合隆永¹, 辻極秀次³, 長塚 仁²,
長谷川博雅¹, 川上敏行¹

¹ 松本歯科大学 大学院歯学独立研究科

² 岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科

³ 岡山理科大学 理学部 生命科学科

コレステリン (CH) 肉芽腫に増殖する血管内皮細胞などについて GFP 骨髄移植マウスを用いて追究した。実験には, 7 週齢雄性の GFP 骨髄移植マウスを用い, その背部皮下組織内に CH 約 10mg を埋入した。以後, 経時的に最大 6 ヶ月後まで埋入部組織を病理組織学的ならびに免疫組織化学的に検討した。埋入部位には線維芽細胞, CD68 陽性のマクロファージと異物巨細胞, CD31 陽性の毛細血管などが増殖していた。毛細血管の一部のものは GFP 陽性であった。肉芽組織内に増殖する血管内皮細胞が GFP 陽性を呈したことは, これが骨髄間葉系細胞に由来するものである事を強く示唆している。

Vascular Endothelial Cells derived from Bone-Marrow Mesenchymal Cells in Experimental Cholesterin Granulomas

Saeka Matsuda¹, Keisuke Nakano², Masahito Shoumura¹, Naoto Osuga¹, Takanaga Ochiai¹,
Hidetsugu Tsujigiwa³, Hitoshi Nagatsuka², Hiromasa Hasegawa¹, Toshiyuki Kawakami¹

¹ Matsumoto Dental University Graduate School of Oral Medicine

² Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

³ Faculty of Science, Okayama Science University

Using green fluorescent protein (GFP) bone-marrow-transplanted-mouse model, we examined experimentally induced cholesterin (CH) granuloma in the dorsal subcutaneous tissues by histopathological, immunohistochemical and fluorescence immunohistochemical methods. The granuloma cells on day 14 showed a proliferation tendency of many CD31-positive vascular endothelial cells within the foreign body giant cell granulation tissue for phagocytosis of CH. These cells were almost GFP-positive, and this phenomenon revealed cell movement from bone-marrow-derived cells. Furthermore, some micro capillaries were both positive of CD31 and GFP, and gradually increase with time (experimental period 6 months). The data suggest that some vascular endothelial cells were come from bone-marrow-derived-mesenchymal cells in the experimental cholesterin granulomas.

歯の発生研究モデルとしてのミドリフグの観察

山本 仁、平山雄三、渡辺多恵、藤関元也、山崎貴希

東京歯科大学 組織・発生学講座

ミドリフグはゲノム遺伝学のモデル動物とされ、すでにゲノムのドラフト配列が発表されている。そのため将来様々な研究に用いられる可能性が考えられるが、歯やその周囲組織の構造についての報告はほとんどされていない。そこで体長約 3cm のミドリフグの歯とその周囲組織について走査型電子顕微鏡および光学顕微鏡により観察した。その結果、嘴状をした顎骨内の唇側に 8-7 個の、舌側に 3-4 個の発生段階が異なる歯胚が垂直的に配列するのが観察された。以上の結果から、ミドリフグは歯の形態形成のモデルとして有用であることが示唆された。

Green spotted pufferfish (*Tetradon nigroviridis*) as an experimental model for tooth development

Hitoshi Yamamoto, Yuzo Hirayama, Tae Watanabe, Motoya Fujiseki, Takaki Yamazaki

Department of Histology and Developmental Biology, Tokyo Dental College

Since the draft genome sequence was announced, it is considerable that green spotted pufferfish (GSPfish) is used as an experimental model for various researches like medaka and zebrafish. We tried to observe tooth and peripheral structure of tooth of GSPfish by scanning microscope and light microscope. As a result, tooth germs shown different developmental stage were observed vertically in jaw bone. It is suggested that GSPfish may be useful animal for tooth development research.

ラット歯髄由来細胞のチタン上における細胞分化能について

佐藤伸明¹、磯村まどか¹、河合遼子¹、加藤世太^{1,2}、吉田和加^{1,2}、杉田好彦^{1,2}、久保勝俊^{1,2}、前田初彦^{1,2}

¹愛知学院大学歯学部口腔病理学講座 ²未来口腔医療研究センター

ラット歯髄由来細胞を骨芽細胞様細胞に分化させてチタンディスク上で培養し、その増殖能および分化能について検索を行い、歯髄由来細胞を用いたインプラント治療の可能性について検討した。本研究では、雄性SDラット(8週齢)の切歯歯髄組織から歯髄細胞を採取し、チタンディスク上で細胞培養を行った。チタンディスクはアルミナによるサンドブラスト処理後、硫酸による酸処理をして実験に用いた。培養細胞の細胞増殖能および、細胞分化能の検索にはWST-1、アルカリフォスファターゼ(ALP)活性、ALP染色、Alizarin Red染色を用いた。チタンディスク上で培養した細胞のALP活性および、ALP染色陽性部位の面積は培養開始5日後と比較して、10日後において有意に増加していた。また、Alizarin Red染色陽性部位の面積は培養開始10日後、20日後、30日後において経時的な増加がみられた。これらの結果から、表面処理を施したチタンディスク表面において、SDラット切歯歯髄由来骨芽細胞様細胞は、細胞増殖能および細胞分化能を保持していることが判明した。また、今後歯髄由来幹細胞を用いたインプラント治療の可能性を広げる有用なデータが得られたと考えられる。

Differentiation of rat pulp cells on titanium disks

Nobuaki Sato¹, Madoka Isomura¹, Ryoko Kawai¹, Seeta Kato^{1,2}, Waka Yoshida^{1,2}, Yoshihiko Sugita^{1,2}, Katsutoshi Kubo^{1,2}, Hatsuhiko Maeda^{1,2}

¹ Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Aichi-Gakuin University

² Center of Advanced Oral Science, Aichi-Gakuin University

The proliferation and differentiation of osteoblast-like cells derived from dental pulp tissue in SD rats on titanium surface were studied, in order to examine the possibility of implant treatment using dental pulp-derived cells (DPDC). The DPDCs which were derived from the incisor pulp tissue of SD rats were seeded on titanium disks with surface treatment. The Cell proliferation and differentiation were studied using WST-1, alkaline phosphatase (ALP) activity, ALP staining and Alizarin Red staining. The ALP activity of DPDCs at day 10 cultures was higher than at day 5 cultures. And also the area of ALP-positive at day 10 cultures was wider than at day 5 cultures. In addition, Alizarin Red staining positive area increased steadily through days 10, 20 and 30. The results of this study suggest that SD rat incisor pulp-derived osteoblast-like cells have proliferative potential and differentiation potency on titanium surfaces. This indicates that stem cells derived from dental pulp can be used on the implant treatments.

鎖骨頭蓋異形成症患者由来細胞を用いた疾患特異的 iPS 細胞の樹立と機能解析

齋藤暁子¹、大木章生²、中村貴⁴、小野寺晶子¹、篠宏美¹、長谷川大悟³、小崎健次郎⁵、
柴原孝彦³、末石研二²、東俊文¹

¹東京歯科大学 生化学講座、²東京歯科大学 歯科矯正学講座、³東京歯科大学 口腔外科学講座、⁴慶應大学医学部医化学教室、⁵慶應大学医学部臨床遺伝学センター

鎖骨頭蓋異形成症 (CCD) は RUNX2 遺伝子異常による常染色体優性遺伝を呈する稀な疾患である。CCD の病態解析、新たな治療法の開発に有用と考えられる患者由来の iPS 細胞を作製した。方法としては、CCD 患者から採取した口腔粘膜由来の線維芽細胞へ山中 4 因子を導入することで iPS 細胞を作製し、これらの CCD-iPS 細胞が未分化能および多分化能を有していることを示した。さらに CRISPR/Cas システムを使用して CCD-iPS 細胞の RUNX2 遺伝子異常を修復したクローンを作製し機能解析を行ったところ、修復前の iPS 細胞と比較し骨芽細胞マーカーの発現および Runx2 発現メカニズムの正常化を認めた。

Generation of disease-specific induced pluripotent stem cells from patients with Cleidocranial dysplasia

Akiko Saito¹, Akio Oki², Takashi Nakamura⁴, Shoko Onodera¹, Hiromi Shino¹, Daigo Hasegawa³, Kenjiro Kosaki⁵, Takahiko Shibahara³, Kenji Sueishi², Toshifumu Azuma¹

¹Department of Biochemistry, Tokyo Dental College, ² Department of Orthodontist, Tokyo Dental College, ³ Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Tokyo Dental College, ⁴Department of Biochemistry&Integrative Medical Biology, School of Medicine, Keio University, ⁵Center for Medical Genetics, School of Medicine, Keio University

Cleidocranial dysplasia (CCD) is a skeletal disorder with autosomal dominant inheritance and is caused by heterozygous mutation of Runx2. In this study, we generated iPS cells derived from CCD patient, and performed a functional analysis to utilize for pathophysiological analysis and new therapeutic development. We established iPS cells by transducing Yamanaka 4 factors into the fibroblast from CCD patient. These CCD-iPS cells showed the expression of the ES cell markers and three germ layer differentiation. Furthermore, we performed genome editing technique using CRISPER-Cas9-derived RNA guided endonucleases to reverse abnormal sequence and could analyze osteogenesis of these patient iPS and reversed iPS cells.

ヒト口腔がん細胞株 SCC-4 における side population 細胞の性状解析

西五辻理江¹、野崎中成²、大浦 清²

¹大阪歯科大学大学院歯学研究科 薬理学講座

²大阪歯科大学 薬理学講座

本研究では、口腔領域を発生母体とする腫瘍を研究対象とし、main population (MP) 細胞に対する side population (SP) 細胞の発現特性を解析した。ヒト舌がん細胞株 SCC-4 を用いて SP 細胞を単離し、網羅的発現解析を行った。SP 細胞では抗癌剤排出に関わる ABCG2/BCRP1、ABCC2/MRP2 の発現は上昇した。一方、薬物の細胞内取り込みに関与する SLC29A1/ENT1 の発現は低下した。排泄能が亢進していた SP 細胞には、薬剤抵抗性の特性が認められ、口腔を発生母体とするがん細胞株に、がん幹様細胞の存在が示唆された。

Gene expression profile of side population cells in human oral cancer cell line SCC-4

Rie Nishiitsutsuji¹, Tadashige Nozaki², Kiyoshi Ohura²

¹Graduate School of Dentistry (Department of Pharmacology), Osaka Dental University

²Department of Pharmacology, Osaka Dental University

To elucidate the properties of SP cells in oral cancer cell lines, the differential expressions of genes between side population (SP) cells and main population (MP) cells were analyzed. SP cells showing a strong ability for drug excretion were able to be separated from the SCC-4 cell line. In SP cells, the ABC transporters ABCG2/BCRP1 and ABCC2/MRP2, which drain anti-cancer drugs, were also up-regulated. The nucleoside transporter SLC29A1/ENT1, which uptakes drugs into cells, was down-regulated. SP cells have the possibility possessing the property of the resistance to some anti-cancer drugs, suggesting that cancer stem-like cells exist in SCC-4.

本学術集会にご協力をいただいた皆様

第24回硬組織再生生物学会学術大会開催に際しましては、下記の皆様よりご協力をいただきました。

厚くお礼申し上げます。

抄録集広告（順不同）

株式会社モリタ

ラックシステムエンジニアリング株式会社

中外製薬株式会社

旭化成ファーマ株式会社

小野薬品工業株式会社

帝人ファーマ株式会社

ワケンビーテック株式会社

株式会社トウユウ

株式会社やよい

八洲薬品株式会社

寄付（五十音順）

一般社団法人大阪府歯科医師会

一般社団法人兵庫県歯科医師会

大阪歯科大学同窓会

大阪歯科大学薬理学講座薬和会

学校法人大阪歯科大学

株式会社ジーシー

株式会社モリタ

北野理化器械

キット薬品工業株式会社

第 24 回硬組織再生生物学会学術大会および総会
プログラム抄録集
2015 年 8 月発行

発行人 大会長 大浦 清
学術大会・総会準備委員会事務局
大阪歯科大学 歯学部 薬理学講座
〒573-1121 大阪府枚方市楠葉花園町 8 - 1
印刷所 株式会社 トゥユー
〒567-0865 大阪府茨木市横江1丁目14番5号