

四国歯学会

第 61 回例会 ポスター発表抄録

ポスター発表

- P-1 MA-T を用いた洗口が口臭と口腔内細菌に及ぼす効果
○長田 卓也, ○宮生 竜生, 玉木 直文, 三木 かなめ, 伊藤 博夫 … 1
- P-2 口腔顔面痛モデル動物を用いた精油嗅覚刺激の疼痛抑制効果～ベルガモット, ラベンダーの検討～
○蓮池 真由子, 井上 美穂, Swarnalaksmi Raman, Jaime Jr. Moreno Fabillar, … 1
Lutfi Putra Perdana, 宮城 麻友, 生田目 大介, 大島 正充, 松香 芳三
- P-3 頭頸部扁平上皮癌の進展における Transforming growth factor beta-induced (TGFBI)の役割
○猿棒 元陽, 山田 梓紗, 邵 文華, 金 晟劍, 毛利 安宏, 工藤 保誠 … 2
- P-4 *Porphyromonas gingivalis* 由来 OMVs は破骨細胞の分化と歯槽骨吸収に関与する
○西松 佳苗, 清水 日向, 仲村 大輔, 植村 勇太, 稲垣 裕司, … 2
廣島 佑香, 木戸 淳一, 村上 明一, 湯本 浩通
- P-5 分泌型シアル酸認識レクチンを用いた骨粗鬆症の新規治療法の開発
○出雲 来樹, 川畑 陸翔, 加納 史也, 橋本 登, Ding Cheng, 山本 朗仁 … 3
- P-6 The role of Deubiquitinating enzyme, OTUB1 in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) progression
○Jin Shengjian, 常松 貴明, 堀口 大吾, 毛利 安宏, 邵 文華, 三好 圭子, 水澤 典子, … 3
萩田 浩子, 吉田 佳世, 吉田 賀弥, 藤原 奈津美, 尾崎 和美, 石丸 直澄, 工藤 保誠
- P-7 高グルコース負荷を行ったヒト歯肉線維芽細胞における Candidalysin の作用
○西川 泰史, 川野 弘道, 友竹 偉則, 湯本 浩通, 市川 哲雄 … 4

ポスター発表

P-1 MA-T を用いた洗口が口臭と口腔内細菌に及ぼす効果

○長田 卓也¹, ○宮生 竜生¹
玉木 直文², 三木かなめ²
伊藤 博夫²

¹徳島大学歯学部歯学科 3 年
²徳島大学大学院医歯薬学研究部
予防歯学分野

【目的】

Matching Transformation System(MA-T)を用いた洗口による口臭値と口腔内細菌数への効果を蒸留水と他の洗口液(CHX)と比較することを目的とした。

【対象】

徳島大学歯学部歯学科 3 年生 6 名の非喫煙者を被験者とした。

【方法】

各洗口液で洗口し、洗口前と 15 分後と 60 分後の口臭値と口腔内細菌数(ATP 値)を測定した。

【結果】

MA-T では 15 分後にも 60 分後にも口臭値は減少していたが、統計学的な有意差は認められなかった。また、ATP 値はほとんど変化がなかった。CHX では両値ともに 15 分後に減少していたが、60 分後には減少は見られなかった。水では口臭値に大きな変化は見られなかった。また、ATP 値は 15 分後に減少していたものの統計学的な有意差は認められず、60 分後には増加していた。

【考察】

MA-T は口臭値が 60 分後にも減少していたので、蒸留水や CHX に比べて口臭対策に効果的で、持続性があると思われる。MA-T は口腔内細菌数を減らす効果があるとされているが、今回の研究ではほとんど変化は認められなかった。

P-2 口腔顔面痛モデル動物を用いた精油嗅覚刺激の疼痛抑制効果～ベルガモット、ラベンダーの検討～

○蓮池真由子¹, 井上 美穂²
Swarnalaksmi Raman²
Jaime Jr. Moreno Fabillar²
Lutfi Putra Perdana²
宮城 麻友², 生田目大介²
大島 正充², 松香 芳三²

¹徳島大学歯学部歯学科 3 年
²徳島大学大学院医歯薬学研究部
顎機能咬合再建学分野

【目的】

神経障害性疼痛は、神経圧迫や障害により生じる慢性的な痛みで、歯科領域においては三叉神経痛などが該当する。一方、近年ではアロマセラピーで用いられる精油の鎮痛・鎮静作用が注目されている。本研究では、口腔顔面痛モデル動物に対して精油成分が痛みを軽減するのかを検討し、そのメカニズムを解明することを目的とする。

【方法】

SD ラットの三叉神経の第二枝上顎神経の枝である眼窩下神経を結紮し、口腔顔面痛モデルを作製した。精油は痛み軽減効果があるといわれているラベンダー、ベルガモットを用いた。ゲージに精油を置き、30 分吸入させた後、疼痛行動試験と運動能力の確認を行った。また精油を吸入させた後、三叉神経節を取り出し関連するサイトカインの組織学的免疫染色を行った。

【結果】

行動実験では、ベルガモットの吸入後に痛みの軽減が認められた。運動計測では差が認められなかった。また抗炎症性サイトカインの IL-10 は、免疫染色ではコントロールに比べてベルガモット、ラベンダーでは高い発現が認められ、炎症性サイトカイン CXCL-2 はどの群でも認められた。

【結論】

柑橘系精油のベルガモットによって痛みが軽減することが示された。

P-3 頭頸部扁平上皮癌の進展における Transforming growth factor beta-induced (TGFB1) の役割

○猿棒 元陽¹, 山田 梓紗¹
 邵 文華², 金 晟劍²
 毛利 安宏², 工藤 保誠²

¹徳島大学歯学部歯学科3年
²徳島大学大学院医歯薬学研究部
 口腔生命科学分野

最近、部分的上皮間葉転換 (partial-EMT) と呼ばれる EMT 誘導過程における中間段階が存在し、新しい概念として提唱され、癌の進展に重要な役割を果たす可能性が示唆されている。本研究では、先行研究にて明らかとなった partial-EMT のマーカーである TGFB1 に着目し、口腔癌における役割を検討した。TCGA (The Cancer Genome Atlas) に登録された頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC) 患者の RNA-seq データを用いて TGFB1 の発現を解析したところ、TGFB1 は partial-EMT スコアの高い症例で高い発現を示し、予後不良に関与することが明らかとなった。次に、HNSCC 培養細胞株における TGFB1 の発現をリアルタイム PCR 法で検討し、TGFB1 発現の低い Ho-1-U-1 細胞および HSC3 細胞に TGFB1 を過剰発現させ、TGFB1 発現の高い OSC20 細胞および KON 細胞に siRNA を用いて knockdown させた。過剰発現および knockdown 実験から、TGFB1 はスフェロイド形成およびがん幹細胞マーカーである ALDH1 の発現誘導に関与することが明らかになった。さらに、TGFB1 過剰発現とコントロール細胞の遺伝子発現プロファイルから、間葉系細胞の骨格形成に関わる TAGLN の発現誘導を見出し、TGFB1 の発現と TAGLN の発現は相関があり、TAGLN 発現は予後不良と関連することを明らかにした。以上より、TGFB1 はがん幹細胞の性質に転換させることにより、HNSCC の進展に関与することが示唆された。

P-4 *Porphyromonas gingivalis* 由来 OMVs は破骨細胞の分化と歯槽骨吸収に関与する

○西松 佳苗¹, 清水 日向¹
 仲村 大輔², 植村 勇太²
 稲垣 裕司², 廣島 佑香³
 木戸 淳一², 村上 明一³
 湯本 浩通²

¹徳島大学歯学部歯学科3年
²徳島大学大学院医歯薬学研究部
 歯周歯内治療学分野
³徳島大学大学院医歯薬学研究部
 口腔微生物学分野

【目的】

歯周病原細菌の一つである *Porphyromonas gingivalis* (Pg) は、外膜小胞(OMVs)を産生し、歯周組織の様々な細胞に影響を与えることが知られている。この OMVs は、細菌の外膜からできた脂質二重膜を持つ直径 100 nm 前後の小胞で、その菌固有の核酸やタンパク質を含み、血液や唾液などの体液で分解されないことが明らかとなっている。しかし、OMVs が歯周組織に及ぼす影響についてはほとんど報告されていない。本研究では Pg-OMVs の破骨細胞分化への影響と歯槽骨吸収に対する影響を検討した。

【方法】

OMVs は Pg ATCC33277 株の培養液から市販のキットを用いて精製した。RAW264.7 細胞を sRANKL (50 ng/mL) で刺激し、破骨細胞に分化誘導した。さらに Pg-OMVs (10~150 ng/mL) で刺激し、TRAP 染色で多核細胞の数を計測した。加えて、破骨細胞の分化マーカーの発現をウェスタンブロッティング法で確認した。ラットを健常群、絹糸結紮歯周炎群、OMVs 注入群に分け、歯肉骨膜下に健常群、絹糸結紮歯周炎群には PBS、OMVs 注入群には Pg-OMVs を注入し、歯槽骨吸収量を μ CT で測定した。

【結果】

RAW264.7 細胞では、Pg-OMVs 10 ng/mL 以上の添加で破骨細胞分化が有意に増加し、破骨細胞分化マーカーの NFATc-1, Cathepsin K および DC-STAMP の発現が上昇した。ラットを用いた実験では、OMVs 注入群と絹糸結紮歯周炎群は健常群と比較して有意に歯槽骨吸収が認められた。

【考察】

Pg-OMVs は炎症性サイトカインの発現誘導に加えて破骨細胞分化も誘導し、歯周炎の発症、さらには歯槽骨の吸収に関与することが示唆された。

P-5 分泌型シアル酸認識レクチンを用いた骨粗鬆症の新規治療法の開発

○出雲 来樹¹, 川畑 陸翔¹
加納 史也², 橋本 登²
Ding Cheng², 山本 朗仁²

¹徳島大学歯学部歯学科3年
²徳島大学大学院医歯薬学研究部
組織再生制御学分野

【背景】

人口の急速な高齢化に伴い骨粗鬆症の患者が年々増加している。日本では1300万人と推測されている。骨粗鬆症は骨折が生じやすく、その対策が医療のみならず、社会的にも重要な課題となっている。我々は歯髄幹細胞の分泌因子群から抗炎症性因子である分泌型シアル酸認識レクチン9 (sSiglec9) 同定した。本研究では卵巣摘出によって作成した骨粗鬆症マウスモデルにsSiglec9を静脈内投与し、その治療効果を検証した。

【材料および方法】

8週齢の雌C57BL/6Jの卵巣を摘出しOVXマウスを作成した。手術日から週3回のsSiglec9の投与を4週間で行った。対照群はOVXマウスにPBSを投与したPBS群を作成した。手術から4週後に下肢を摘出し、マイクロCT撮影と組織学的解析をした。

【結果】

マイクロCTでは、PBS群はSham群と比較し、骨密度と骨梁の長さが低値だった。sSiglec9群ではPBS群と比較し、骨密度や骨梁の長さが有意に高値だった。また手術後2週の組織染色では、sSiglec9群はPBS群と比較し有意にTRAP陽性細胞数が少なかった。

【結後】

sSiglec9の静脈内投与は骨粗鬆症マウスモデルの骨量減少を抑制する。

P-6 The role of Deubiquitinating enzyme, OTUB1 in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) progression

○Jin Shengjian¹, 常松 貴明²
堀口 大吾¹, 毛利 安宏¹
邵 文華¹, 三好 圭子¹
水澤 典子¹, 萩田 浩子¹
吉田 佳世³, 吉田 賀弥⁴
藤原 奈津美³, 尾崎 和美³
石丸 直澄², 工藤 保誠¹

¹徳島大学大学院医歯薬学研究部
口腔生命科学分野
²徳島大学大学院医歯薬学研究部
口腔分子病態学分野
³徳島大学大学院医歯薬学研究部
口腔保健支援学分野
⁴徳島大学大学院医歯薬学研究部
口腔保健教育学分野

Objectives: Deubiquitinating enzymes (DUBs) comprise a large group of proteases which remove the ubiquitin(s) from the specific target proteins and regulate diverse ubiquitin-dependent pathways. By screening DUBs expression in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) using The Cancer Genome Atlas (TCGA) database, I found OTUB1 (OTU deubiquitinase, ubiquitin aldehyde binding 1) is highly expressed in the primary HNSCC and significantly correlated with poor prognosis of HNSCC patients. The aim of this study is to clarify the role of OTUB1 in HNSCC.

Methods: First, the candidate genes which involved in the poor prognosis of oral cancer patients were screened from RNA-seq data of 519 primary HNSCC cases with the information of prognosis, obtained from TCGA database. Next, four types of DUB (OTUB1, USP10, USP14 and STAMBP) were transfected into HNSCC cell line, HSC2 by using lentiviral vector. To evaluate the candidate 4 DUBs' function, the assays of proliferation, invasion, and tumorigenesis were performed. Exosome was isolated from OTUB1-overexpressing cells and analyzed the containing proteins by Western blotting.

Results and future plans: Based on the database screening, 4 candidates DUBs (OTUB1, USP10, USP14 and STAMBP) were selected. Among 4 candidates DUBs-overexpressing HSC2 cells, OTUB1-overexpressing cells showed the highest ability of proliferation and invasion. Moreover, we orthotopically injected 4 candidates DUBs-overexpressing HSC2 cells into the tongue of nude mice. After 4 weeks of orthotopic implantation, OTUB1-overexpressing cells showed aggressive tumors with lymph node and lung metastasis. Taken together, I concluded OTUB1 may have role to promote tumorigenesis and

metastasis. Therefore, I focused on OTUB1 for further experiments.

Exosomes are membrane enclosed small vesicles comprising lipid bilayers and are mediators of intercellular communication that transport a variety of intracellular components. I isolated the exosome from OTUB1-overexpressing cells. Interestingly, ectopic OTUB1 and programmed death-1 (PD-L1) were detected in the exosome. As it recently has been shown that programmed death-1 (PD-L1) is a substrate of OTUB1, I make a hypothesis that exosome released from HNSCC cells with expression of OTUB1 and PD-L1 may transport ectopic PD-L1 via stabilizing ectopic OTUB1 to neighboring cancer cells for escaping immune response. Now I am performing further experiments to demonstrate my hypothesis.

P-7 高グルコース負荷を行ったヒト歯肉線維芽細胞における Candidalysin の作用

○西川 泰史¹, 川野 弘道¹
友竹 偉則¹, 湯本 浩通²
市川 哲雄³

¹徳島大学病院口腔インプラントセンター
²徳島大学大学院医歯薬学研究部
歯周歯内治療学分野
²徳島大学大学院医歯薬学研究部
口腔顎顔面補綴学分野

Candida albicans (CA) は、糖尿病に罹患したインプラント周囲炎患者の粘膜縁下から有意に多く検出されることが報告されている。(Alsahhaf, *J Periodontol.* 2019) RAGE (Receptor of AGE) や可溶性 RAGE は、糖尿病血管合併症の病態形成と深く関与し、様々な生理活性機能を有していることが報告されている。(山本, 糖尿病. 2005) 今回、ヒト歯肉線維芽細胞を高グルコース (HG) 条件下で培養後に CA の産生毒素である Candidalysin (Clys) を刺激添加することで糖尿病に罹患したインプラント周囲炎患者を模倣し、その影響を明らかにすることとした。結果、高グルコースで培養した場合、RAGE 発現を亢進するが、可溶性 RAGE の産生は認められなかった。また、高グルコース負荷後に clys を刺激添加した場合、RAGE の発現と IL-6 の産生の亢進を認めたが、可溶性 RAGE の産生に亢進は認めなかった。インプラント周囲炎患者のインプラント周囲溝中に RAGE のアゴニストである S100A8/A9 が有意に検出されることが明らかとなっており (Rie Kido et al. *Int J Implant Dent.* 2021), 今後のさらなる解明が必要であると考えられる。Candidalysin 誘導性 IL-6 は、糖尿病に罹患したインプラント周囲炎患者の病態形成に関与することが示唆された。