

### I-G1-3) CEBP/ $\beta$ 遺伝子欠損マウスを用いた過剰歯に関する形態学的解析

京都大学大学院医学研究科感覚運動系外科学講座口腔外科学分野

○塚本容子・高橋 克・東郷由弥子・喜早ほのか・斎藤和幸・

Boyen HUANG・別所和久

Morphological analysis of supernumerary teeth in CEBP/beta Knockout mice

Dept. of OMS, Graduate School of Medicine, Kyoto Univ.

○TSUKAMOTO Hiroko, TAKAHASHI Katsu, TOGO Yumiko, KISO Honoka, SAITO Kazuyuki, Boyen HUANG, BESSHO Kazuhisa

【目的】近年、CEBP/ $\beta$  は骨形成、軟骨形成、歯牙形成など硬組織の形成にも深く関わる事が報告されるようになった。骨形成の過程においては、CEBP/ $\beta$  は IGF1, Runx2, osteocalcin, Cdkn1c の発現を調整することがわかっている。また歯牙形成においては、DSPP に関与し、象牙芽細胞の分化に影響を与えていることがわかっている。今回われわれは、CEBP/ $\beta$  遺伝子欠損マウスに過剰歯を認めた。そこで、CEBP/ $\beta$  遺伝子欠損マウスを用いて過剰歯の形態学的解析を行った。【材料・方法】生後 12 週の CEBP/ $\beta$  遺伝子欠損マウスの上顎骨および下顎骨を  $\mu$ -CT 撮影後、HE 染色にて組織形態学的解析を行った。【結果】CEBP/ $\beta$  遺伝子欠損マウスに  $\mu$ -CT にて過剰歯を認めた。過剰歯は上顎切歯周辺に認められた。組織形態学的解析においても、過剰歯は上顎切歯の歯根周囲に存在しており、象牙質形成と歯髓形成を認め、正常な歯牙様硬組織の形態を示していた。【結論】過剰歯と CEBP/ $\beta$  遺伝子の変異との関連性が示唆された。現在、臨床において、過剰歯の発生原因は不明なことが多い。今後は CEBP/ $\beta$  遺伝子変異によるメカニズムの解明を行うとともに、ヒトにおける過剰歯と遺伝子の関係を調べる必要があると思われる。

### I-G1-5) メカニカルストレスによる顎関節滑膜細胞を介した骨代謝メカニズムの解析

秋田大学医学部附属病院歯科口腔外科<sup>1</sup>・東北大学大学院歯学研究科口腔病態外科学講座顎顔面外科学分野<sup>2</sup>

○高野裕史<sup>1</sup>・高橋 哲<sup>2</sup>・中田 憲<sup>1</sup>・桑島精一<sup>1</sup>・山崎雅人<sup>1</sup>・大淵真彦<sup>1</sup>・今野泰典<sup>1</sup>・五十嵐秀光<sup>1</sup>・福田雅幸<sup>1</sup>

Analysis of the bone metabolism mechanism through the synovial cells derived from human temporomandibular joint by mechanical strain

Division of Dentistry and Oral surgery, Akita Univ.School of Medicine, Akita, Japan<sup>1</sup>, Division of Maxillofacial Surgery, Dept. of Oral Medicine and Surgery, Graduate School of Dentistry, Tohoku Univ.<sup>2</sup>

○TAKANO Hiroshi<sup>1</sup>, TAKAHASHI Tetsu<sup>2</sup>, NAKATA Akira<sup>1</sup>, KUWAJIMA Seiichi<sup>1</sup>, YAMAZAKI Masato<sup>1</sup>, OHBUCHI Masahiko<sup>1</sup>, KONNO Yasunori<sup>1</sup>, IGARASHI Hidemitsu<sup>1</sup>, FUKUDA Masayuki<sup>1</sup>

【目的】メカニカルストレスは、骨代謝調節因子などの産生により骨代謝やリモデリングに関与していることが明らかとなっている。また、近年、顎関節症の発症および病態形成への関与が示唆されているが、顎関節滑膜細胞への作用については、未だ十分な知見が得られていない。本研究の目的は、ヒト顎関節由来培養滑膜細胞への機械的圧縮ストレスが骨代謝やリモデリングに及ぼす影響について、そのメカニズムを解析することである。【方法】顎関節滑膜組織から outgrowth 法により得られた培養滑膜細胞を実験に用いた。健康人末梢血単球との共培養 (rhM-CSF, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 添加) による破骨細胞誘導を行う際、ガラスシャーレと鉛球を応用した直接的圧縮刺激を加え、形成された多核巨細胞数を評価した。また、培養滑膜細胞に圧縮刺激を加えた際の PGE<sub>2</sub>, sRANKL, OPG の産生について、ELISA 法を用いて評価した。【結果】共培養による破骨細胞誘導系では、圧縮刺激を加えると TRAP 陽性の多核巨細胞形成数は有意に増加し、また、ELISA にて PGE<sub>2</sub>, sRANKL の蛋白産生量は有意に増加し、OPG 蛋白産生量は有意に減少した。【考察】顎関節滑膜細胞への圧縮刺激は、PGE<sub>2</sub> 産生増加から RANKL の発現を増強させ、さらに OPG 産生を抑制する破骨細胞誘導メカニズムにて顎関節での骨代謝やリモデリングに関与している可能性が示唆された。

### I-G1-4) テネascinCノックアウトマウスにおける過開口後の顎関節の変化

和歌山県立医科大学医学部口腔顎顔面外科学講座

○篠原裕志・松本隆司・東條 格・藤田茂之

Histological change of temporomandibular joint loaded the excessive mouth opening in tenascin-C knockout mouse

Dept. of OMS, Wakayama Medical Univ., Wakayama, Japan

○SHINOHARA Yuji, MATSUMOTO Takashi, TOJYO Itaru, FUJITA Shigeyuki

【目的】顎関節内障の病変として顎関節腔内の線維性癒着が挙げられるが、この線維性癒着にテネascinC が関与しているかを検討することを目的とした。【方法】マウス顎関節の線維性癒着について、野生型マウスとテネascinCノックアウトマウスに過開口運動を行い検討した。さらに、マウス関節円板組織のフィブロネクチンの発現をウエスタンブロッティングにて検討した。【結果】過開口後 20 日目に野生型マウスにおいて関節円板の癒着を認めたが、テネascinCノックアウトマウスでは癒着を認めなかった。ウエスタンブロッティングでは、テネascinCノックアウトマウスは野生型マウスよりフィブロネクチンの発現量は少なかった。【結論】テネascinC は糖タンパク分子の構造をもつ細胞外マトリックスで、組織修復、創傷治癒や発癌過程の中間に強く発現する。つまり、テネascinC は形態形成、発癌や創傷治癒などの組織再構築過程において重要な役割を果たす細胞外マトリックスと考えられている。今回の実験では、過開口運動により野生型マウスでは顎関節組織の線維性癒着を認めたが、テネascinCノックアウトマウスでは線維性癒着を認めなかった。また、テネascinCノックアウトマウスでは線維化に関係するフィブロネクチンの発現量は少なかった。以上のことから、マウス顎関節においてテネascinC は線維性癒着に関与する因子であることが示唆された。

### I-G1-6) ラット working heart brain stem preparation における嚥下活動の解析

大阪大学歯学部歯学科

○青海哲也・山西 整・原田丈司・辻 忠孝・Bakhshishayan Sanam・小野雄大・栗本聖之・小橋寛薫・古郷幹彦

Analysis of the swallowing activities in rat working heart brain stem preparation

School of Dentistry Osaka Univ., Osaka, Japan

○SEIKAI Tetsuya, YAMANISHI Tadashi, HARADA Takeshi, TSUJI Tadataka, BAKHSHISHAYAN Sanam, ONO Yuudai, KURIMOTO Takayuki, KOBASHI Hironobu, KOGOU Mikihiko

【目的】ラット working heart brain stem preparation (WHBP) は in vivo に近い状態の延髄標本に対して in vitro の研究手法を用いることのできる有用な実験標本である。今回われわれは、本標本を用いて嚥下活動の解析を行い得る実験系を確立し、さらに嚥下活動および呼吸活動に対する adrenergic レセプターの修飾作用を検討した。【材料および方法】21 ~ 42 日齢 Wister 系ラットを用い、WHBP 標本を作成した。標本の自発的な呼吸性活動を確認した上で、上喉頭神経 (SLN) を剖出し電気刺激 (強度: 5.0V, 刺激時間: 1ms, 頻度: 単発および 1 ~ 3Hz の連続刺激) を加えた。神経および筋活動の記録は、舌下神経および横隔神経、あるいは顎舌骨筋、咬筋、および中咽頭収縮筋から行った。【結果】SLN に対して電気刺激を加えると、刺激反応性に呼吸活動と異なった活動を認めた。本活動出現時には横隔神経から記録される呼吸活動は抑制され、さらに複数の嚥下関連筋群活動を同時記録すると、嚥下活動と矛盾しない筋活動のシーケンスを認めた。【結論】上記結果より、WHBP から得られた SLN 刺激反応性の活動は、嚥下活動であることが確認された。本嚥下活動の呼吸周期抑制作用に対する adrenergic レセプターの関与について薬物投与実験を行い、若干の知見を得たため同時に報告する。