

2021 年
評議会・総会

第 39 回学術大会 定例講演会

プログラム
抄録集

日時：2021 年 3 月 13 日（土）

開催方式：オンライン開催

運営事務局：北海道医療大学札幌サテライトキャンパス
札幌市中央区北 4 条西 5 丁目 アスティ 45 12 階
(電話：011-223-0205)

主管：歯学部 口腔生物学系 薬理学分野

プログラム

●9:40～ 受付開始

●9:55～10:00 開会の辞・大会長挨拶

●一般演題1 座長：建部廣明，吉田光希

10:00～10:10

1. 下顎智歯根尖相当部から摘出された硬組織塊の放射線学的，組織学的検討

○高橋昌己¹，渋井徹¹，入江一元¹，秋月一城²，藤田景子²，安彦善裕³，
藤惇³，中山英二⁴

¹北海道医療大学歯学部 口腔構造・機能発育学系解剖学分野

²松田整形外科記念病院 歯科口腔外科

³北海道医療大学歯学部 生体機能・病態学系臨床病理学分野

⁴北海道医療大学歯学部 生体機能・病態学系歯科放射線学分野

10:10～10:20

2. 放射線抵抗性を獲得した口腔扁平上皮癌細胞における放射線応答変化

○大内健太郎¹，細川洋一郎²，奥村一彦¹

¹北海道医療大学歯学部 生体機能・病態学系組織再建口腔外科学分野

²弘前大学大学院 保健学研究科放射線技術科学領域

10:20～10:30

3. The Role of Sonic Hedgehog Signaling in the Tumor Microenvironment of Melanoma

○Karnoon Shamsoon¹，Hiroaki Takebe²，Daichi Hiraki³，Mari Shimatani³，Saki Fujii³，Takashi Saito¹，Tsuyoshi Shimo³

¹Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation

²Division of Histology, Department of Oral Growth and Development

³Division of Reconstructive Surgery for Oral and Maxillofacial Region, Department of Human Biology and Pathophysiology

●10:30～10:40 休憩

●一般演題2 座長：加藤幸紀，倉重圭史

10:40～10:50

4. 矯正学的歯の移動時における Gli1 陽性歯根膜細胞の組織学的解析

○関 有里^{1,2}，建部廣明¹，飯嶋雅弘²，入江一元³，細矢明宏¹

¹北海道医療大学歯学部 口腔構造・機能発育学系組織学分野

²北海道医療大学歯学部 口腔構造・機能発育学系歯科矯正学分野

³北海道医療大学歯学部 口腔構造・機能発育学系解剖学分野

10:50～11:00

5. Mouse tooth germ organ culture in epithelial rest of Malassez conditioned medium

○Dembereldorj Bolortsetseg, Syed Taufiqul Islam, Erika Minowa, Yunosuke Okada, Yoshihito Kurashige, Masato Saitoh

Division of Pediatric Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

11:00～11:10

6. Dedifferentiation of epithelial cell rests of Malassez by epigenetic drugs and transformation into mesenchymal-like cells

○Koki Yoshida¹, Shuhei Takahashi¹, Ariuntsetseg Khurelchuluun², Durga Paudel¹, Tetsuro Morikawa¹, Jun Sato, Hiroki Nagayasu², Yoshihiro Abiko¹

¹Division of Oral Medicine and Pathology, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

²Division of Oral and Maxillofacial Surgery, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

11:10～11:20

7. Concentration dependent effect of hydrogen peroxide to induce cellular senescence in gingival epithelial cells and reversal of senescence by fisetin

○Sarita Giri¹, Ayuko Takada², Masae Furukawa³, Kenji Matsushita³, Yasushi Furuichi¹

¹Division of Periodontology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

²Division of Biochemistry, Department of Oral Biology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

³Department of Oral Disease Research, National Center for Geriatrics and Gerontology

●11:20～11:30 休憩

●11:30～12:00 評議員会・総会

●12:00～13:00 昼休み

●13:00～14:00 定例講演会 座長：谷村明彦

「新型コロナの唾液検査法が認められるまで」

講師：豊嶋 崇徳 先生

北海道大学大学院 医学研究院 内科学分野 血液内科学教室 教授

●14:00～14:10 休 憩

●一般演題3 座長：佐藤寿哉，高橋昌己

14:10～14:20

8. Comparison of acetylcholine-induced salivary secretion in different AQP5 expression rat strains

○Tahmina Akter, Akihiro Nezu, Akihiko Tanimura

Division of Pharmacology, Department of Oral biology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

14:20～14:30

9. 歯肉の自律神経性血管反応における部位特異性

○岡田 悠之介¹，齊藤 正人¹，石井 久淑²

¹北海道医療大学歯学部 口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野

²北海道医療大学歯学部 口腔生物学系生理学分野

14:30～14:40

10. 飼料性状の違いがマウスの学習・記憶能に及ぼす影響

○竹田洋輔¹，菅悠希¹，川西克弥^{1,2}，木村聡¹，佐藤夏彩¹，佐々木みづほ¹，豊下祥史¹，越野寿¹

¹北海道医療大学歯学部 口腔機能修復・再建学系咬合再建補綴学分野

²北海道医療大学歯学部 総合教育学系臨床教育管理運営分野

14:40～14:50

11. Alteration of microflora and anti-microbial peptides in oral cavity and intestine of mice by bee pollen diet

○Ariuntsetseg Khurelchuluun¹，Osamu Uehara²，Durga Paudel¹，Tetsuro Morikawa¹，Koki Yoshida¹，Jun Sato¹，Hiroko Miura²，Yoshihiro Abiko¹

¹Division of Oral Medicine and Pathology, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

²Division of Disease Control and Molecular Epidemiology, Department of Oral Growth and Development, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

●14:50～15:00 休 憩

●一般演題4 座長：豊下祥史，松田康裕

15:00～15:10

12. 保険外併用療養（選定療養）の「特別の料金」における都道府県格差について
 — 7. 前歯部の金属歯冠修復に使用する金合金または白金加金の支給 —

○岡村敏弘¹，山口摂崇²，川上智史^{1, 3}，越智守生²，永易裕樹⁴

¹ 北海道医療大学 予防医療科学センター

² 北海道医療大学歯学部 口腔機能修復・再建学系クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野

³ 北海道医療大学歯学部 口腔機能修復・再建学系高度先進保存学分野

⁴ 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

15:10～15:20

13. 介護福祉施設入所者における既往歴と肺炎死との関係

— 1年前向きコホート研究 中間解析 —

○山中大寛，山口摂崇，武田佳大，越智守生

北海道医療大学歯学部 口腔機能修復・再建学系クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野

15:20～15:30

14. 3D造形支援システムを用いて精密再建を行った下顎歯肉癌の1例

○原田文也¹，平木大地²，若林茉莉絵¹，関 姫乃¹，南田康人¹，石川昌洋¹，佐々木智也¹，淀川慎太郎²，中山英二³，志茂 剛²，安彦善裕⁴，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 北海道医療大学歯学部 生体機能・病態学系組織再建口腔外科学分野

³ 北海道医療大学歯学部 生体機能・病態学系歯科放射線学分野

⁴ 北海道医療大学歯学部 生体機能・病態学系臨床口腔病理学分野

●15:30～15:35 閉会の辞

北海道医療大学歯学会
第 39 回学術大会

定例講演会

新型コロナの唾液検査法が認められるまで

北海道大学大学院医学研究院 血液内科

教授 豊嶋崇徳 先生

新型コロナウイルス感染症の診断は、インフルエンザのように鼻咽頭や中咽頭からのスワブ検査が必要だと誰もが思い込んでいた。しかし、2020年春の感染拡大により、一気にスワブ検体採取者や感染防御具が不足し、PCR検査の実施が困難になっていった。そんなさなか、ふとしたきっかけで唾液検査を考える出来事があり、今日の唾液検査の確立へと繋がっていった。唾液検査の導入によって、検査の間口が開かれ、さらにはPCRのみならず、より迅速な検査法も開発されることになった。現在では検体数、スピード感、罹病率などさまざまな状況に応じて検査法を選択できるようになった。また自己唾液採取による、ヒトと接することなく診断が可能となった。本講演では、本研究の経緯と最新の成果を紹介する。

——略 歴——

てしま たかのり

豊嶋 崇徳

【学歴・職歴】

- 昭和 55 年 鳥取県立米子東高等学校卒業
- 昭和 61 年 九州大学医学部卒業
- 平成 8 年 岡山大学第二内科 助手
- 平成 9 年 米国ハーバード大学 ダナ・ファーバー癌研究所
- 平成 12 年 米国ミシガン大学内科 Faculty member
- 平成 16 年 九州大学病院遺伝子・細胞療法部 准教授
- 平成 24 年 北海道大学大学院医学研究院 血液内科学教室 教授
- 平成 28 年 北海道大学病院 病院長補佐（兼任）
- 平成 30 年 北海道大学病院 検査・輸血部 部長（兼任）

【受賞歴】

- 平成 11 年 米国造血細胞移植学会 最高論文賞
- 平成 28 年 平成 27 年度北海道大学大学院医学研究科・医学部医学科 優秀研究賞
- 平成 31 年 第 1 回日本造血細胞移植学会学会賞
- 令和 2 年 2020 年度 第 3 回伊藤太郎特別賞

【所属学会】

- 日本血液学会 理事
- 日本造血細胞移植学会 理事長
- 日本輸血・細胞治療学会 理事

【現在の研究テーマ】

- 造血幹細胞移植
- CAR-T 細胞療法
- 白血病・リンパ腫の病態・治療開発
- 新型コロナ診断学

北海道医療大学歯学会
第 39 回学術大会

一般演題

1

下顎智歯根尖相当部から摘出された硬組織塊の放射線学的，組織学的検討

○高橋昌己¹，渋井徹¹，入江一元¹，秋月一城²，藤田景子²，安彦善裕³，佐藤惇³，中山英二⁴

¹北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系 解剖学分野

²松田整形外科記念病院 歯科口腔外科

³北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系 臨床病理学分野

⁴北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系 歯科放射線学分野

【目的】

下顎智歯の治療の際に根尖部に境界明瞭な石灰化像が認められた。歯原性腫瘍または腫瘍用病変がまれに顎骨に生じることがあり，これらの病変は歯科治療の際に偶然発見されることが多い。本発表では摘出した病変を放射線学的，組織学的に検討したので報告する。

【症例】

43歳の男性。下顎左側臼歯部の疼痛を主訴として松田整形外科記念病院に来院。数か月前から痛みがあるという。口腔内所見で下顎左側智歯が半埋伏の状態であり，パノラマエックス線写真で近心根根尖部の頰側に不透過像を認めた。さらに，CT像では左下顎枝部にスリガラス構造が見え，その一端に皮質骨と同様のCT値を持った米粒大ほどの組織塊が智歯根尖部と下顎管に近接して認めた。下顎智歯周囲炎と臨床診断し，外来局所麻酔において埋伏智歯抜去術を施行した。智歯は分割して抜去し，根尖部の病変は周囲骨を開削して摘出した。

【方法】

摘出した病変はホルマリン溶液に浸漬し，固定・保存した。内部構造の解析のためにマイクロCTを用いた。脱灰後，通報に従ってパラフィン包埋し，連続切片を作成し，H-E染色と抗オステオポンチン，抗DMP1による免疫組織学的染色を行った。

【結果および考察】

マイクロCT所見から病変内部に網目状に走る血管様空洞がみられ，外部と交通していることが明らかになった。H-E染色像では充実性組織と血管様構造が観察されたが，明確なオステオンは無く，幼弱な基質も認められた。中心部は封入細胞が少なく複雑な改造線を示し，表層部に平行な層板構造を伴う部位もみられた。免疫組織化学的に，複雑な骨改造像にオステオポンチンの反応があったことから，活発な硬組織の代謝が示唆された。放射線学的に皮質骨と近似したCT値と病変と周囲との境界が明瞭なことから，骨腫が考えられ，また根尖部に近いことや組織学的にオステオンが見られないことから，セメント質骨性異形成症も疑われた。

2

放射線抵抗性を獲得した口腔扁平上皮癌細胞における放射線応答変化

○大内健太郎¹, 細川洋一郎², 奥村一彦¹¹ 北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系組織再建口腔外科学分野² 弘前大学大学院保健学研究科放射線技術科学領域

【背景】腫瘍中に存在する癌幹細胞 (cancer stem cell, CSC) は放射線抵抗性を示し、放射線治療後に再発や遠隔転移を引き起こすことから、重要な予後不良因子として考えられている。従って放射線治療の予後向上のために、放射線抵抗性機序の解明は大きな課題である。放射線の主要な殺細胞効果はDNA 2本鎖切断 (DNA double strand break: DSB) であり、抵抗性細胞では細胞に備わっているDSB修復機構が亢進していると考えられている。しかし我々の研究では、放射線照射された細胞の回復を表す亜致死損傷修復 (sub-lethal damage repair: SLDR) が放射線抵抗性細胞と非抵抗性細胞で有意な違いは示さなかった。そこで今回、放射線抵抗性機序をさらに明らかにすることを目的とし本実験を行った。

【方法】口腔扁平上皮癌細胞株HSC2と、1回線量2 Gyで総線量60 Gy以上照射されても増殖を続ける放射線抵抗性口腔扁平上皮癌細胞株HSC2-Rを使用し、X線照射に対する応答を比較検討した。エックス線照射は150 kVp, 20 mA, 1.0 Gy/minの条件で行った。エックス線を2 Gy照射し、24および48時間後のアポトーシス細胞をAnnexin Vおよびpropidium iodideを用いてフローサイトメトリー (BD FACS Aria) により検出した。また、2 Gy照射し0, 0.5, 1, 6および24時間後のDNA損傷修復動態を、FITC anti-H2AX Phospho (Ser139)を用いてH2AXのリン酸化をフローサイトメトリーにより検討した。

【結果および考察】2 Gy照射から48時間後においてHSC2のアポトーシス細胞の割合が有意に上昇した。一方HSC2-Rは2 Gy照射によるアポトーシス細胞の割合が上昇することはない、HSC2よりも有意に低かったことから、抵抗性細胞はアポトーシス抵抗性を獲得していることが示唆された。DSBの指標であるH2AXのリン酸化を2 Gy照射後から経時的に測定した結果、HSC2は照射直後 (0 h) に蛍光強度のピークが観察され以後減少した。HSC2に比較してHSC2-Rの蛍光強度はすべての時間で低くなったことからDSBが少ないと考えられた。

【結論】放射線抵抗性細胞と非放射線抵抗性細胞の放射線に対する応答を比較検討した結果、抵抗性細胞はアポトーシス抵抗性を獲得していることに加えて、放射線による損傷が入りにくいことが明らかになった。低linear energy transfer (LET) 放射線はDNA近傍に発生する活性酸素種を介して傷害することが知られているため、酸化ストレスを排除する機構 (抗酸化活性) が亢進していることが考えられた。

3

The Role of Sonic Hedgehog Signaling in the Tumor Microenvironment of Melanoma

○Karnoon Shamsoun¹, Hiroaki Takebe², Daichi Hiraki³, Mari Shimatani³, Saki Fujii³, Takashi Saito¹, Tsuyoshi Shimo³

¹*Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation*

²*Division of Histology, Department of Oral Growth and Development*

³*Division of Reconstructive Surgery for Oral and Maxillofacial Region, Department of Human Biology and Pathophysiology*

Abstract

Introduction: The Sonic Hedgehog (SHH) signaling pathway is a signaling cascade that plays a crucial role in embryonic development. Emerging evidence has suggested that aberrant activation of Hedgehog (Hh) signaling is associated with malignant tumors development and drug resistance of a multitude of cancers. However, the role of Hh signaling of melanoma is still unclear. In the current study, we examined the role of Hh signaling in melanoma tumor microenvironment.

Materials and Methods: We examined the expression pattern of SHH and Hh signaling by immunohistochemical analysis in clinically-resected human skin melanoma samples (tissue microarray, 48 samples, M481, US Biomax) and B16 (murine melanoma) tumors model. B16 xenograft C57BL 4-week-old female mice were intraperitoneally administered with GANT61, an inhibitor for GLI1 and GLI2-induced transcription (40mg/kg) or a vehicle in every alternative day from for 12 days (n=6/group). Microscopic appearance of tumor neovascularization and vascular analysis on day 12 after treatment was measured the length and area of the capillaries by using NIH Image. Data were analyzed using the unpaired Student's t-test for the analysis of two groups by using the SPSS statistics software.

Results: SHH and GLI1 was highly expressed in tumor cells and endothelial cells in human skin melanoma samples. GANT61 significantly suppressed the tumor growth and the neovascularization around the tumor of B16 cells xenografts and no significant difference was observed in the body weight between the two groups. GANT61 significantly reduced the expression of SHH, GLI1 and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in tumor cells and the area of endomucin-positive endothelial cells in tumor xenograft.

Conclusion: The results of our present study suggesting that SHH/GLI signaling plays an important role in the B16 melanoma tumor microenvironment through angiogenesis.

4

矯正学的歯の移動時における Gli1 陽性歯根膜細胞の組織学的解析

○関 有里^{1,2}、建部廣明¹、飯嶋雅弘²、入江一元³、細矢明宏¹

¹北医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系組織学分野、

²北医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系歯科矯正学分野、

³北医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系解剖学分野

【目的】矯正歯科治療で歯を移動させると、牽引側の歯槽骨において骨形成が生じるが、骨芽細胞の分化機構は未だ不明である。Gli1 は形態形成に必須なヘッジホッグシグナリングの下流にある転写因子であり、歯胚形成時の幹細胞において発現が認められることが明らかとされている。そこで本研究ではリネージトレーシング解析法を用い、歯の移動時の歯根膜における Gli1 陽性細胞の分化能を検討した。

【方法】タモキシフェンを2日間投与した8週齢 Gli1-Cre^{ERT2}/ROSA26-loxP-stop-loxP-tdTomato (iGli1/Tomato) マウスの上顎切歯と第一臼歯間にクローズドコイルスプリングを装着した。装着前及び装着後 2、10 日に上顎左側第一臼歯歯根膜における Gli1/Tomato、カテプシン K、Osterix、PCNA 陽性細胞の局在を免疫組織化学的に検討した。また、一部の iGli1/Tomato マウスに対しては、観察期間中にカルセインを隔日で投与した。

【結果及び考察】装着前の歯根膜において、ごく少数の Gli1/Tomato 陽性細胞がエンドムチン陽性の血管周囲に局在していた。カテプシン K 陽性の破骨細胞は遠心側の歯槽骨表面に認められた。矯正移動開始2日後、PCNA 陽性細胞が牽引側である遠心歯根膜に多数認められた。矯正移動 10 日後の近心の歯槽骨表面にはカテプシン K 陽性の破骨細胞が出現した。一方、遠心歯槽骨表面に ALP の酵素活性が認められた。また、一部の Gli1/Tomato 陽性細胞は骨芽細胞分化マーカーである Osterix の免疫反応を示した。カルセインを投与したマウスにおいては遠心歯槽骨にカルセイン陽性の新生骨を認め、この新生骨中に Gli1/Tomato 陽性の骨細胞が認められた。

【結論】牽引側における歯根膜の Gli1 陽性歯根膜細胞は矯正移動により増殖し、骨芽細胞及び骨細胞へ分化することが明らかとなった。従って、Gli1 陽性歯根膜細胞は矯正学的歯の移動時における骨芽細胞の供給源となることが示唆された。

5

Mouse tooth germ organ culture in epithelial rest of Malassez conditioned medium

○*Dembereldorj Bolortsetseg, Syed Taufiqul Islam, Erika Minowa, Yunosuke Okada, Yoshihito Kurashige, Masato Saitoh*

Division of Pediatric Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido
Ishikari Tobetsu, Hokkaido, Japan

【Object】 Epithelial cell rests of Malassez (ERM) are the only odontogenic epithelial cell remains within periodontal ligament (PDL) tissue. Functions of ERM suggested as to the maintenance of PDL space and regeneration of cementum. ERM expresses the different types of proteins, categorized as cytokeratin's, bone matrix proteins, and enamel matrix proteins (EMPs). EMPs are also the major secretory proteins of ameloblasts, comprises mainly 90% of amelogenin. Amelogenin regulates enamel biomineralization and structural organization during amelogenesis.

Mouse tooth germ expresses amelogenin at embryonic day 13.5, earlier than any other embryonic craniofacial complex tissues. Our previous study has isolated multiple clones from ERM with variations at their amelogenin expression levels. Total eighteen clones were isolated from ERM and named ERM 1-18. In this study, ERM-2 and -3 were chosen as the highest and lowest amelogenin secretive cells, respectively, CRUDE ERM as the origin of all clones. The purpose is to address whether conditioned mediums of ERM clones affect enamel mineralization on mouse tooth germ in organ culture.

【Materials and Methods】 To collect conditioned mediums (CMs), 5×10^4 cells/ml of CRUDE, ERM-2 and -3 clones were cultured in KBM without any growth factors. Mandibular molar tooth germs were microdissected from postnatal day 3 (PN3) of C57BL/6J mice and cultured tooth germs for 1, 2, 3, 7 and day 14 of CRUDE and ERM clones CMs. Cultured tooth germ was analyzed to observe the enamel crystal's alignment and shape on the enamel surface by scanning electron microscopy (SEM). By Hematoxylin-Eosin (H.E) staining, the differentiation stage of cultured tooth germ was compared with tooth germs from sagittal mouse head sections of corresponding days.

【Results and Discussion】 H.E. staining of mouse head showed that tooth germs three days after birth were at bell stage with developing thin enamel layer. On days 1 and 2 of organ culture, plate-like calcified structures were observed in all groups. On day 3, few plate-like structures changed into needle-like structures only in ERM-2 CM tooth germ. On day 7, needle-like structures were observed in both CRUDE and ERM-2 CM tooth germs, but plate-like structures remained in ERM-3 CM tooth germ. After 14 days of culture, the deposition of needle-like structures was observed in all groups.

In ERM-2 CM tooth germ, the transformation of needle-shaped structures from plate-shaped took place earlier than others, but in ERM-3 CM, the transformation was delayed. The plate-like structures are octa-calcium phosphates (OCP). The needle and columnar-like structures have been suggested as a precursor of Hydroxyapatite crystals (HAP). Amelogenins were reported to affect enamel crystal growth by transforming OCPs into dense columnar structures of needle-like HAP structures.

【 Conclusion 】 This result suggests that amelogenin regulates OCP growth and induces HAP in a concentration-dependent manner.

6

Dedifferentiation of epithelial cell rests of Malassez by epigenetic drugs and transformation into mesenchymal-like cells

○Koki YOSHIDA¹, Shuhei TAKAHASHI¹, Ariuntsetseg KHURELCHULUUN², Durga PAUDEL¹, Tetsuro MORIKAWA¹, Jun SATO, Hiroki NAGAYASU², Yoshihiro ABIKO¹

¹Division of Oral Medicine and Pathology, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

²Division of Oral and Maxillofacial Surgery, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

Introduction:

The application of dental pulp stem cells and periodontal ligament stem cells to regenerative medicine has a problem in practicality due to the small proportion of the stem cells. Since the efficiency of stem cell production can be enhanced by small molecule compounds of epigenetic drugs, we attempted to dedifferentiate epithelial cell rests of Malassez (ERM) by small molecule compounds and induce differentiation into mesenchymal cells directly.

Materials and Methods:

ERM cells were cultured in embryonic stem cell medium with a combination of 1 μ M of the DNA demethylating agent, 5-Azacytidine (5Aza), and 2 mM of histone deacetylase inhibitor, valproic acid (Vpa) for 1 week. The cells stimulated with both 5Aza and Vpa were named as a progenitor-dedifferentiated into stem-like cells (Pro-DSLCS). The Pro-DSLCS were further cultured in endothelial cells, mesenchymal stem cells, and osteogenic differentiation medium for 1-3 weeks.

Results:

The stem cell markers tended to be higher in the Pro-DSLCS. The mRNA and protein levels of the endothelial, mesenchymal stem, and osteogenic cell markers were significantly higher in the Pro-DSLCS than the controls in the mesenchymal differentiation media.

Conclusion:

ERM treated with epigenetic drugs may be directly transformed into mesenchymal-like cells and may be used for periodontal regeneration.

7

Concentration dependent effect of hydrogen peroxide to induce cellular senescence in gingival epithelial cells and reversal of senescence by fisetin

○Sarita Giri¹, Ayuko Takada², Masae Furukawa³, Kenji Matsushita³, Yasushi Furuichi¹

¹Division of Periodontology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Hokkaido, Japan

²Division of Biochemistry, Department of Oral Biology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Hokkaido, Japan

³Department of Oral Disease Research, National Center for Geriatrics and Gerontology, Obu, Japan

[Objective]: Gingival tissue shows progressive changes with aging and an *in vitro* model of gingival tissue could be useful in understanding age associated oral diseases. We aimed to establish a hydrogen peroxide (H₂O₂) treatment model to induce aging in human gingival epithelial cells. We further examined whether the induced senescence could be reversed by fisetin, a flavonoid component known for its anti-oxidant and anti-inflammatory activities.

[Materials and methods]: Primary human gingival epithelial progenitor (HGEPp) cells were cultured and treated with different concentrations of H₂O₂. A cell vitality test, senescence-associated beta galactosidase (SA-β-gal) staining, and mRNA and protein expression of known senescence markers *p16*, *p21*, and *p53* were analysed with quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT PCR) and western blotting. Furthermore, the cells were treated with 2 μg/ml of fisetin and the senescence markers were evaluated.

[Results]: The cells showed dose-dependent changes in vitality test, SA-β-gal staining, relative mRNA expression and protein expression after H₂O₂ treatment. H₂O₂ treatment of 400 μM was determined as optimum doses to induce senescence in HGEPp cells as compared to control. The treatment of cells with fisetin downregulated the senescence markers at mRNA and protein level and β-gal ratio.

[Conclusion]: In conclusion, an *in vitro* model of gingival epithelial cellular senescence by H₂O₂ treatment was established. Also, the ability of fisetin to reverse the induced senescence was demonstrated. Our *in vitro* study could be an aging model for pre-clinical studies for changes associated in periodontal tissue with aging.

Keywords: Cellular senescence, gingival tissue, oxidative stress, fisetin, aging

8

Comparison of acetylcholine-induced salivary secretion in different AQP5 expression rat strains

○Tahmina Akter, Akihiro Nezu, Akihiko Tanimura

Division of Pharmacology, Department of Oral biology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

[Introduction] The membrane bound water channel, aquaporin 5 (AQP5) plays important role for the transcellular fluid secretion in salivary gland cells. The AQP5 low expression rat (AQP5/low), established from Sprague-Dawley (SD) strain (Murdiastuti *et al.* 2002), has been used to examine the role of AQP5 in salivary secretions. In this study, we compared acetylcholine (ACh)-induced salivary secretion, blood flow (BF), and Ca^{2+} response in submandibular gland (SMG) in AQP5/low, SD and Wistar/ST rats.

[Methods] Whole saliva secretions were examined by the cotton ball method. Real-time monitoring of BF in SMG was performed by the laser speckle BF imager. Rats were stimulated with continuous infusion of ACh into the femoral vein under urethane anesthetize. The expression of AQP5, an ion channel (TMEM16A), and a cotransporter (NKCC1) in SMG were analyzed by Western blot and RT-PCR. Measurement of intracellular Ca^{2+} concentration ($[Ca^{2+}]_i$) in dispersed SMG cells was examined by fluorescence spectrophotometer using Ca^{2+} indicator, fura-2.

[Results and Discussions] Salivary secretions in AQP5/low, SD and Wistar/ST were induced with the infusions of ACh (30–1440 nmol/min) in a dose-dependent manner. The maximum secretions with high-dose of ACh (720–1440 nmol/min) in AQP5/low and Wistar/ST were ~70% of that in SD. We also found that the expressions of AQP5 in AQP5/low and Wistar/ST were much lower than that in SD. We also found that expressed same level of AQP5 as AQP5/low, suggesting that AQP5 determine the rate of salivary secretions with strong stimulation. Interestingly, however, the salivary secretions with low-dose of ACh (~90 nmol/min) in Wistar/ST was two times higher than that of AQP5/low, and was comparable to that in SD. The ED_{50} values for ACh-induced salivary secretion in AQP5/low, SD and Wistar/ST were 309, 134, and 102 nmol/min, respectively. These results suggest that ACh sensitivity in salivary secretion does not correlate with expression levels of AQP5. Monitoring of BF in SMG demonstrated that low-dose of ACh induced oscillatory changes in BF in all strains. The BF oscillations in AQP5/low were found mostly below the resting level, whereas that in Wistar/ST were found above the resting level. On the other hand, EC_{50} values for ACh-induced $[Ca^{2+}]_i$ rise in strains were almost same (~1 μ M). Gene expressions of TMEM16A and NKCC1 of these strains were also same. These results indicate that the differences in salivary secretion with weak ACh-stimulation among these strains are attributable to the difference in BF.

[Conclusions] Expression level of AQP5 determines the maximum rate of salivary secretions, while the BF plays important role for the physiological salivary secretions.

9

歯肉の自律神経性血管反応における部位特異性

○岡田 悠之介¹、齊藤 正人¹、石井 久淑²¹口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野²口腔生物学系生理学分野

[目的] 歯肉の神経性血流調節には、副交感性血管拡張と交感性血管収縮線維が関与することが知られている。特に、副交感性血管拡張線維は三叉神経の求心性刺激により活性化され、歯肉の血流を急峻かつ広範囲に増加させる。したがって、副交感性血管拡張は歯肉の機能維持に重要であり、それらの障害は種々の歯周疾患に関連することが示唆される。一方、交感性血管収縮線維は頸部交感神経幹からのトーンスにより調節されている。歯肉は遊離歯肉と付着歯肉に大別され、両部位の血管網や防御機構には違いがあることが知られている。したがって、これらの部位特異性は、歯肉の局所機能に密接に関与していると考えられる。しかしながら、歯肉の血流動態、特に自律神経反射を介する血管反応の部位差については明確にされていない。そこで、本研究は歯肉における自律神経性血管反応における部位特異性の有無を明らかにすることを目的とした。

[方法] 実験には、ウレタン麻酔下で人工呼吸にて管理された雄性ラットを用いた。遊離歯肉と付着歯肉の血流量は、二次元血流計とレーザードップラー血流計を用いて測定した。ラットの体幹血圧は大腿動脈から観血的に記録するとともに、諸種の薬物は大腿静脈から全身性に投与した。副交感神経の活性化には三叉神経の求心性刺激による反射法を用いた。一方、交感神経の活性化には頸部交感神経の末梢性電気刺激を用いた。

[結果] 舌神経の求心性刺激は、遊離歯肉と付着歯肉に顕著な血流増加を誘発した。これらの血流増加は、付着歯肉よりも遊離歯肉の方が有意に大きかった。舌神経刺激による血流増加は、自律神経節遮断薬のヘキサメトニウム(10 mg/kg)により有意に抑制された。また、これらの血流増加は、ムスカリン受容体遮断薬のアトロピン(100 µg/kg)により約50%有意に抑制された。頸部交感神経刺激は両部位に有意な血流減少を誘発し、舌神経刺激による血流増加を刺激頻度依存性に抑制した。

[結論] 本研究結果から三叉神経の求心性入力を介する副交感性血管拡張は付着歯肉よりも遊離歯肉の血流調節に重要であり、この血管拡張のメカニズムにはコリン及び非コリン作動性の血管拡張線維が関与していることが示唆された。また、過度の頸部交感神経活動は、歯肉の副交感性血管拡張を介する血流増加を著しく抑制することが明らかになった。

10

飼料性状の違いがマウスの学習・記憶能に及ぼす影響

○竹田洋輔¹, 菅悠希¹, 川西克弥^{1, 2}, 木村聡¹, 佐藤夏彩¹, 佐々木みづほ¹, 豊下祥史¹, 越野寿¹

北海道医療大学歯学部¹咬合再建補綴学分野,²臨床教育管理運営分野

【目的】

近年、軟食化に伴い日本人の咀嚼回数は激減しており、さらに、不規則かつ栄養バランスの偏った食事摂取により様々な生活習慣病の若年齢化が大きな問題となり食育の重要性が注目されている。咀嚼運動の獲得には、摂食感覚刺激が重要であり (Langenbach G et al., 2003), 軟性食の長期間摂取は、咀嚼機能の正常な発達を妨げる (Denenberg VH et al., 1958)。咀嚼は中枢に対し血流の増加や情報伝達物質の分泌促進することが知られており、高次脳機能の維持に重要であるが、咀嚼機能獲得の臨界期までに咀嚼しなかった場合の脳機能に対する影響は不明である。そこで本研究では「咀嚼機能の成熟」が学習・記憶能に与える影響について解明することを目的とした。

【方法】

北海道医療大学動物実験規則に従い、同大学動物実験倫理委員会の承認の上で遂行した (承認番号: 19-038)。開示すべき COI 関係にある企業はない。

3 週齢雄性 C57/BL/6J マウスを固形群, 粉末群, 粉末/固形群 (離乳後, 粉末飼料により 12 週まで飼育し, 固形飼料により期間終了まで飼育) の 3 群に振り分けた。実験期間は, 20 週間 (短期群) と 28 週間 (長期群) に設定した。実験期間終了後に, 学習・記憶能を評価するためにステップスルー型受動的回避試験および Y 字迷路試験を行った。

統計学的分析では, ステップスルー型受動的回避試験には Mann-Whitney U 検定, 群間比較には一元配置分散分析を行い, その後の検定には Tukey を用いた。有意水準は 5% とした。

【結果】

ステップスルー型受動的回避試験については, 短期群, 長期群ともに, 固形群は学習・記憶能の低下を認めなかった。一方で, 粉末群, 粉末/固形群は学習・記憶能の低下を認めた。Y 字迷路における自発的交替行動率は, 短期群, 長期群ともに固形群と比較して粉末群, 粉末/固形群で, 有意な低下を認めた。

以上の結果から, 若齢時から咀嚼刺激の少ない飼料を摂取すると, 途中から咀嚼刺激の多い飼料を摂取しても学習・記憶能は低下したままで, 著しい向上は見込めないことが明らかとなった。

【結論】

若齢期における「咀嚼機能の成熟」が学習・記憶能に重要な影響を与えることが示された。

11

Alteration of microflora and anti-microbial peptides in oral cavity and intestine of mice by bee pollen diet

○Ariuntsetseg Khurelchuluun¹, Osamu Uehara², Durga Paudel¹, Tetsuro Morikawa¹, Koki Yoshida¹, Jun Sato¹, Hiroko Miura², Yoshihiro Abiko¹

¹Division of Oral Medicine and Pathology, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

²Division of Disease Control and Molecular Epidemiology, Department of Oral Growth and Development, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

[Introduction] Bee pollen has been used as a supplementary nutrition because of its high antioxidant and anti-inflammatory properties. The role of oral and gut microflora in maintaining the immune system is very important to body defense. Bee pollen as a daily supplement could modulate the oral and gut microflora and alter the immune system of the body. Also, the modulation of microflora could be related with the expression of anti-microbial peptides (AMPs) of oral cavity and intestine. Therefore, the aim of this study is to demonstrate the effect of bee pollen diet on oral and intestinal microflora as well as AMPs of mice.

[Material and Method] C57BL/6J mice were divided into Bee Pollen diet (BP) group and control group (n=8, each). BP mice were fed with 5% bee pollen mixed in mouse food while control group was given normal mouse food for 1 month. Both group mice were sacrificed to collect oral swab, intestinal stool, buccal mucosa and intestine.

The oral swab and intestinal stool were processed to extract microbial DNA. Genomic DNA was then used for 16S metagenomic sequencing library preparation for Illumina MiSeq System. The obtained data were analyzed with Quantitative Insights into Microbial Ecology (QIIME). Bacterial taxonomy, alpha diversity and beta diversity in saliva and stool were evaluated using Analysis of variance of microorganisms (ANCOM), Kruskal-Wallis test and PERMANOVA, respectively. Total RNA was extracted from the oral tissue and intestinal tissue using TRIzol method and reverse transcription was done. AMPs such as beta defensin-1, beta defensin-2, beta defensin-3 and cathelicidin were checked for mRNA expression using qRT-PCR. Kruskal-Wallis test was used to test the significance.

[Results] The metagenomics study of oral and intestinal microflora revealed significant differences in beta diversity ($p < 0.01$) of oral and intestinal microflora. The ANCOM analysis showed that *Lactococcus* at genus level was significantly increased in oral and intestinal microbiome of BP diet group. The mRNA expression of beta defensin-1, beta defensin-2, beta defensin-3 and cathelicidin were upregulated in the buccal mucosa of BP diet group as compared to control.

[Conclusion] Bee pollen diet alters the microflora and AMPs of oral cavity and intestine which might play a role in modulating the immune system of the body.

12

保険外併用療養（選定療養）の「特別の料金」における都道府県格差について

－ 7. 前歯部の金属歯冠修復に使用する金合金または白金加金の支給－

○岡村敏弘¹，山口摂崇²，川上智史^{1, 3}，越智守生²，永易裕樹⁴

¹ 北海道医療大学予防医療科学センター

² 北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野

³ 北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系高度先進保存学分野

⁴ 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

【目的】

歯科の保険診療における都道府県格差の要因や自費診療の都道府県格差の実態は明らかになっていない。そこで、その現状を明らかにすることを目的として、これまで保険外併用療養（選定療養）における金属床による総義歯の提供とう蝕の指導管理について分析を行い、その状況を報告してきた。今回は、歯科固有の差額徴収として古くから運用されている前歯部金属歯冠修復の貴金属の支給について検討を行った。

【方法】

各地方厚生（支）局のホームページで公表される、都道府県ごとの保険外併用療養費医療機関名簿（2018年10月1日現在）に掲載されている内容のうち、前歯部の金属歯冠修復に使用する金合金または白金加金の支給において、各都道府県における届出医療機関数と1歯あたりの特別の料金の状況について確認を行った。

【結果】

金合金による前歯部の選定療養を行うとして届け出た医療機関数は、全国で144医療機関であり、届出医療機関数が最も多い滋賀県でも届出件数は16医療機関で、届出が全くみられない県も9県みられた。全国における当該特別の料金の平均値は71,585円（最小値は1,815円，第1四分位数は54,000円，中央値は72,834円，第3四分位数は86,400円，最大値は222,050円）であった。

白金加金による前歯部の選定療養を行うとして届け出た医療機関数は、全国で101医療機関であり、届出医療機関数が最も多い山梨県および滋賀県でも届出件数は7医療機関で、届出が全くみられない県も10県みられた。全国における当該特別の料金の平均値は75,143円（最小値は6,437円，第1四分位数は60,000円，中央値は75,600円，第3四分位数は86,400円，最大値は232,850円）であった。

【考察および結論】

保険外併用療養（選定療養）における前歯部の金属歯冠修復に使用する金合金または白金加金の支給は、代用合金（金銀パラジウム合金）との金属の材料差額として取り扱うこととなっている。しかし、今回確認した全国における特別の料金は、料金が高額すぎることから、金属の材料差額ではなく、歯冠修復物としての療養の差額（例えば、保険給付外の陶材焼付金属冠との差額）という不適切な運用が行われている可能性があり、当該選定療養の適切な運用にかかる周知を行うことが必要と思われる。

13

介護福祉施設入所者における既往歴と肺炎死との関係

— 1年前向きコホート研究 中間解析—

○山中大寛, 山口摂崇, 武田佳大, 越智守生

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野

【目的】

北海道内の介護福祉施設入居者においてベースライン時の既往歴の有無と一年経過後の肺炎死の関連性を検討した。

【方法】

本研究は1年間の前向きコホート研究である。北海道内の介護福祉施設のうち本研究への参加協力を得られた9施設で実施した(調査期間:2018年7月~2020年2月)。従属変数をベースライン調査1年経過後の肺炎による死亡, 説明変数を既往歴(循環器疾患・脳血管疾患・糖尿病・腎疾患・耳鼻科疾患・眼疾患・口腔疾患)の有無, 性別, 年齢を調整変数としたロジスティック回帰分析を行った。なお, 統計解析にはSPSS Ver24を使用した。

【結果】

本研究のベースライン調査での対象者は267名であったが, 1年後の調査時のドロップアウトは72名(施設退所64名, 調査当日同意が得られなかった8名)であった。統計解析は195名であった(男性入所者36名, 平均年齢 85.0 ± 7.91 歳, 女性入所者159名, 平均年齢 87.9 ± 6.05 歳)。ベースライン調査1年経過後に肺炎で4名(男性入所者3名, 女性入所者1名)が死亡した。既往歴の有無による単回帰分析において腎疾患の既往がある者は肺炎死のリスク比が7.68(信頼区間1.03-57.3)であった。次に年齢および性別を調整変数に投入した多重ロジスティック回帰分析を実施したところ, 腎疾患の既往歴と肺炎死に関連はなかった。

【考察および結論】

単回帰分析において腎疾患の既往歴のみが1年経過後の肺炎死のリスク因子となっている可能性が示唆された。先行研究で入院患者に対する慢性腎臓病と肺炎の関連についての報告がなされており, 本研究の対象である85歳以上の介護福祉施設入所者においても同様の結果であることが示唆できた。一方で性年齢調整後, 腎疾患の既往歴が肺炎死と関連性を示さなかった要因として, 肺炎死4名のうち, 男性が3名と男性に偏っていること, サンプル数が男性の方が女性より少ないこと等が考えられる。サンプルサイズが少ないこと, 交絡因子を全て調整できていない等の研究の限界があるため, 今後サンプル数を増やしていくとともに, 中間解析結果をもとに口腔内状況との関係性についても継続して調査していく必要がある。

14

「3D造形支援システムを用いて精密再建を行った下顎歯肉癌の1例」

○原田文也¹，平木大地²，若林茉莉絵¹，関 姫乃¹，南田康人¹，石川昌洋¹，佐々木智也¹，淀川慎太郎²，中山英二³，志茂 剛²，安彦善裕⁴，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北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系組織再建口腔外科学分野

³北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系歯科放射線学分野

⁴北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系臨床口腔病理学分野

【目的】近年，3Dプリンターなどの造形支援システムは，技術の発達・普及に伴い，医療現場においても広く応用されている．口腔悪性腫瘍は外科的切除が第一選択とされ，術野はしばしば硬組織へ及ぶ．これまでの硬組織再建は手技が煩雑であり，精密な再建には術者の高い技術に依存する傾向にあった．本症例では3D造形支援システムである Trumatch を用い，精密な硬組織再建を行った下顎歯肉癌の症例を経験したため文献的考察を加えて報告する．

【症例】患者：66歳，男性．主訴：歯肉のただれと頬の腫れ．既往歴：全身エリテマトーデス（30才頃から）．現病歴：2020年6月に左側下顎歯肉のただれと頬部の腫脹を自覚したが放置していた．最近になり腫脹の増大と左側下顎のしびれを認めたため精査目的に当科初診となった．現症：顔貌は左側頬部の腫脹を認め，左側オトガイ下部および顎下部に腫大したリンパ節を1つずつ認めた．口腔内は#36および#37周囲から臼後部にかけて40×25mmの表面粗造で灰白色の潰瘍を認めた．病変は一部硬結を認め，外向性腫脹を認めた．画像所見：パノラマX線画像より#36および#37周囲歯槽骨は辺縁明瞭であり，骨吸収像は認めなかった．CT画像より#36から臼後部にかけて，頬舌的に膨隆する腫瘤を認める．腫瘤は下顎枝前縁，内側翼突筋に及んでいた．PETにて左側下顎臼歯部歯肉相当部にFGDの集積（Max-SUV 27.5）を認めた．

【処置および経過】扁平上皮癌の診断にて4週間のTS-1 100mg投与を行った．全身麻酔下に頸部郭清術，下顎区域切除および左側肩甲骨皮弁を用いた下顎骨再建術を施行した．再建時には Trumatch system により，サージカルガイドと再建プレートをカスタムメイドした．肩甲骨を用いた下顎骨再建時に3Dプリンタモデルおよびサージカルガイドを適応した症例は我々の渉猟し得た限り1例だけであった（Kass, 2018.）．患者の創部は良好な治癒が得られ，現在当科外来で経過観察を続けている．

【考察】 Trumatch system によるサージカルガイドにより精密な再建骨採取と移植が行われた．骨接合部は緊密でありテーブルサージェリー，再建プレートの術中ベンディングの必要もなく良好な咬合関係が得られるとともに，手術時間短縮も図られると示唆された．