

た。  
結果と考察：TGF- $\beta$ 誘導性の Smad2/3 シグナルにより、SCDC2 細胞の増殖が抑制されることを明らかとした。加えて、TGF- $\beta$ 誘導性の Smad2/3 シグナルにより SMC 分化が誘導される一方、TGF- $\beta$ 誘導性の p38 MAPK シグナルにより EC 分化が抑制されることを明らかとした。また、この TGF- $\beta$ により誘導される SCDC2 細胞の SMC 分化が FGF により脱分化を受けることから、この TGF- $\beta$ により認められる SMC 分化は初期分化である可能性が示唆された。これらの研究成果は、PDL 周囲組織の血液循環を改善する Cell Therapy 確立のための重要な研究基盤であると期待される。

## 2. IL-1ra-sgp130 融合蛋白を用いた歯周炎カスケードの制御法の検討

○澤田 俊輔, 佐々木大輔, 藤原 英明,  
帖佐 直幸\*, 石崎 明\*, 八重柏 隆

岩手医科大学歯学部歯科保存学講座歯周療法学分野, 生化学講座細胞情報科学分野\*

目的：歯周炎は様々なサイトカインによって制御されている。なかでも、IL-1 $\beta$ および IL-6 は病態悪化において中心的役割を果たしている。一方、IL-1ra および sgp130 は、IL-1 $\beta$  および IL-6/sIL-6R のアンタゴニストとして抗炎症作用を有する。我々は、IL-1ra と sgp130 の作用を併せ持つ新規融合蛋白 IL-1ra-sgp130 (融合蛋白) を合成した。今回、歯肉線維芽細胞 (HGF) を標的として、融合蛋白による複数のサイトカインを標的とした炎症制御法を検証することとした。

材料・方法：ヒト由来間葉系幹細胞株 UE7T13 細胞の RNA を鋳型とし、IL-1ra および sgp130 の cDNA を得た。それぞれの cDNA を pFLAG-CMV-5a (SIGMA) に組み込み、融合蛋白発現ベクターを構築した。その後、FreeStyle293F 細胞 (invitrogen) に遺伝子導入を行い、発現させた融合蛋白をアフィニティーカラムによって精製した。標的細胞はヒト健康歯肉由来 HGF とし、融合蛋白の細胞障害性は MTT 法によって調べた。融合蛋白を前処理し

た細胞に、IL-1 $\beta$  (1 ng/ml, R&D) および IL-6/sIL-6R (各々 20 ng/ml, R&D) を 48 時間作用させた。カテプシン L および VEGF の産生性は、ウェスタンブロット法あるいは市販の ELISA キット (R&D) を用いて調べた。なお、統計解析は Student's *t*-test を用いて検討した。結果および考察：新規に合成した融合蛋白 IL-1ra-sgp130 は、HGF における IL-1 $\beta$ , IL-6/sIL-6R 誘導性のカテプシン L および VEGF 産生を有意に抑制した ( $p < 0.05$ )。以上のことより、融合蛋白は IL-1 と IL-6/sIL-6R による歯周炎症の進行を同時に抑制制御し得ることを示唆する。

## 大学院歯学研究科第 3 学年研究発表会

### 1. ヒトの口蓋領域における味覚応答の客観的評価

－ 7T-fMRI を用いた高次脳機能応答からの検討－

○久保田将史, 小林 琢也, 佐々木真理\*,  
樋口さとみ\*, 佐原 資謹\*\*,  
深見 秀之\*\*, 近藤 尚知

岩手医科大学歯学部補綴・インプラント学講座, 超高磁場 MRI 診断・病態研究部門\*, 生理学講座病態生理学分野\*\*

背景・目的：近年、急速な高齢化が進む中で味覚障害を主訴とする患者が増加している。味覚障害の原因には、主に薬剤性、特発性、亜鉛欠乏性、心因性の他に末梢および中枢の味覚伝導路に対する直接的な障害によるものと、他疾患により二次的に生じる障害等に分類され、その病態と原因は多岐にわたる。これまで、補綴治療と味覚障害との関係は、口蓋を被覆する全部床義歯の装着における影響について検討がなされ、全部床義歯装着が味覚障害に及ぼす影響は少ないとされてきたが、実際の臨床では義歯装着による味覚障害を訴える患者は跡を絶たず、その因果関係については未だ明らかでない。そこで、本研究では非侵襲的脳マッピング法の 1 つである fMRI を用いて脳機能応答の観点から客観的に、口蓋被覆が味覚応答に及ぼす影響について検討を行った。

方法：被験者は味覚障害のない右利きの健常有歯顎者 11 名（男性 8 名，女性 3 名，平均年齢 28.5 歳）とした。味覚刺激領域は，独自に製作したスプリント型装置を用いて，全部床義歯により被覆される口蓋部のみとした。刺激には，各被験者の認知閾値に設定した塩酸キニーネ液による苦味刺激と無刺激として人工唾液（25 mM KCl, 25 mM NaHCO<sub>3</sub>）を用いた。実験デザインはブロックデザインを用い，各試液を 30 秒間交互に 10 回繰り返した。撮像には 7.0TMR スキャナー（GE 社 Signa 950 System）を用い，T1 強調画像法にて形態画像を撮像した後に EPI を用いて撮像し，タスクとレストの差分変化を機能画像として取り出した。画像解析には脳機能画像解析ソフト（SPM8）を使用し，課題でボクセル毎に *t* 検定を行い，BOLD 効果の増加するボクセルを抽出した。この解析によって得られた領域の座標を MNI 座標から Talairach 座標に変換し，解剖学的座標との重ね合わせを行い，賦活部位を同定した。

結果：口蓋への限局した苦味刺激によって味覚の識別に関与している第一次味覚野の弁蓋部には両側性，島には右側優位の賦活を認めた。しかし，味の嗜好性や食行動に関与している第二次味覚野の大脳皮質眼窩前頭皮質の賦活は認められなかった。

考察および結論：味覚応答は舌・口蓋・咽頭・喉頭領域への味覚刺激が中枢経路にて統合され，第一次味覚野の弁蓋部・島，第二次味覚野の眼窩前頭皮質での応答が認められる。本研究において，この部位の中でも口蓋のみに限局した味覚刺激から第一次味覚野の賦活を認めたことから，義歯装着による口蓋被覆が味覚応答を遮断していることが推察できる。一方，苦味刺激による応答のみを検討したが，義歯装着による味覚障害は多種の味質にわたるため，今後は様々な味覚刺激や口蓋の被覆範囲の比較を検討し，口蓋味覚に関与する脳賦活応答の詳細を検討する予定である。

## 2. Th17 が抜歯窩の治癒およびオッセオインテグレーションに与える影響

○松本 知生，下山 佑\*，丸尾勝一郎，鬼原 英道，木村 重信\*，近藤 尚知

岩手医科大学歯学部補綴・インプラント学講座，微生物学講座分子微生物学分野\*

背景・目的：近年明らかにされた T helper 17 (Th17) は，Th1 や Th2 とは異なるブランチのヘルパー T 細胞 subset で，感染防御のほか組織修復にも作用することが示唆されている。Namら（2012）によれば，Th17 の産生する IL-17 (IL-17F) は骨芽細胞の骨分化能を亢進し，初期の骨修復に関与することが示されている。しかし，歯科領域，特に抜歯窩の治癒およびオッセオインテグレーションに与える Th17/IL-17 の役割については明らかにはされていない。本研究では，ラット系を用いて抜歯窩およびその修復組織での IL-17 (IL-17A および IL-17F) の動態について検索するとともに，チタン埋入にともなう影響について検討した。また株化骨芽細胞 (MC3T3-E1) を用いて，IL-17 添加による種々の骨分化マーカーの変動について検討した。

方法：8 週齢の Wistar 系ラットの上顎第一臼歯を抜去し，一定期間経過後屠殺し，トレフィンバーを用いて抜歯窩の修復組織を採取した。サンプル中より RNA を精製，逆転写後，リアルタイム RT-PCR により IL-17A および IL-17F を測定した。抜歯窩へのチタン埋入はチタン棒（φ0.5 x 2.4 mm）を用いて行った。MC3T3-E1 細胞に市販の rIL-17A および rIL-17F を添加し，細胞増殖活性を測定するとともに，アルカリフォスファターゼ (ALP)，I 型コラーゲン (Col1)，骨シアロタンパク質 (BSP)，Runx2，オステオカルシン (OCN)，オステリックス (Osx) の発現誘導をリアルタイム RT-PCR を用いて測定した。

結果：抜歯直後の組織サンプルおよび抜歯窩の修復組織には，その絶対量は極めて低いものの，IL-17A および IL-17F mRNA の発現が認められた。組織修復にともない IL-17A mRNA 発現の上昇が観察され，遅れて IL-17F mRNA の発現が上昇した。しかし，抜歯窩へのチタン埋入群では，いずれの IL-17 アイソフォームの mRNA 発現も抑制されることが示唆された。IL-17 A は，2.5% FCS 存在下で MC3T3-E1 の細胞増殖を促進したが，無血清培養では増殖促進効果は観察されなかった。骨分化マーカーに