

## 大学院セミナー報告(14)

大学院セミナーの日時、場所、演者、タイトル、講演要旨を報告します。

### 第332回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：免疫細胞の分化と動きからみた口腔感染症の病態

演 者：田中 芳彦（福岡歯科大学機能生物化学講座感染生物学分野・教授）

講演要旨：

歯周病に代表される口腔疾患は、歯の損失につながるため食生活や社会生活等に支障をきたし、全身の健康に影響を与えます。国民の多くがこのような口腔疾患に罹患しており、その患者数は歯周病266万人（厚生労働省 平成23年患者調査）と増加傾向にあり、社会的な関心が高まっています。歯周病をはじめとする口腔疾患は難治性の慢性感染症であり、特定の病原微生物が原因で発症し、免疫応答が病態に関与していることが示されています。近年、歯周病が糖尿病など全身の健康に影響を及ぼす疾患であることが明らかにされる一方で、全身での免疫応答がこのような口腔疾患に及ぼす影響についての理解は進んでいません。

口腔内には700種類を越える常在微生物が生息し、個体の中で最も多種多様な常在微生物叢を形成しています。例えば、歯周病は *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) に代表される歯周病原性菌によって引き起こされる歯周組織の感染症で、歯を失う最も大きな原因になっています。ヘルパー T 細胞を欠損したマウスでは歯周病感染に抵抗性であり、その病態に T 細胞による免疫応答が深く関与していることが明らかになっています。歯周病患者の口腔内局所にインターロイキン-17 (IL-17) 産生を特徴とする自己免疫疾患の発症との関与が指摘されるヘルパー T 細胞 Th17が多く存在することが知られており、歯周病の病態が Th17細胞による歯周組織の破壊によって論じられるようになってきました。

現在、免疫細胞の分化・遊走に焦点をおき、局所での感染が原因でおこる疾患と考えられてきた歯周病をはじめとする口腔感染症について、全身を介した免疫応答が疾患を制御するという視点から研究を展開しています。本講演では、われわれがとりくんでいる口腔感染症における免疫応答の研究についてご紹介します。

日 時：2015年10月16日(金) 17時30分～19時00分

場 所：実習館 2 階 総合歯科医学研究所セミナールーム

### 第333回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：イメージング技術が拓く感染症研究の可能性

演 者：寺尾 豊（新潟大学大学院医歯学総合研究科微生物感染症学分野・教授）

講演要旨：

細菌感染症に対する「魔法の弾丸」として抗生剤が実用化され、一世紀を迎えようとしている。しかし、抗生剤の歴史の陰には耐性菌の出現という負の側面が伴っている。そこで、「脱抗生剤医療」を長期的な展望とし、イメージング技術を用いた以下 3 テーマの基礎研究を推進している。

最初に紹介するキメラ抗体研究では、抗原特異性を担う抗体 Fab 領域を広範な抗原認識能を有する自然免疫系レセプターと置換し、万能なキメラ抗体を開発する試みを進めている。抗体 Fab 部を Toll 様受容体の種細胞外ドメインと置換させ、原子間力顕微鏡観察で形態確認を行い、「タンパク質のナマの立体構造」と細菌に対するオプソニン活性の相関についての知見を得ることができている。この課題からは、タンパク質が作動する湿潤環境下で、未処理・未加工の生体分子を観察する魅力をお伝えでき

ればと考えている。

次に紹介する新規免疫系研究のテーマは、好中球の細胞死に伴う NETs 免疫である。感染部位に過剰な好中球浸潤と細胞死を引き起こす肺炎球菌感染に着目し、タイムラプス顕微鏡下で肺炎球菌が NETs 誘導能を有することを確認した。そこで、好中球の NETs 免疫作動因子について、肺炎球菌の分子群から網羅的に同定を試みた。その結果、肺炎球菌の  $\alpha$ -enolase が NETs 誘導能を有すること、およびオプソニン効果を亢進させることが明らかになった。元来、解糖系の構成酵素である  $\alpha$ -enolase は、菌体の細胞質内に局在する。しかし、肺炎球菌は自己融解酵素を有し、後期増殖期等の環境に応じて自身の細胞壁ペプチドグリカンを消化し、菌体内毒素群を放出することで、更なる病原性を発揮する。おそらく、宿主免疫系は同菌の自己融解時に遊離する菌体内  $\alpha$ -enolase を活発な細菌増殖のマーカーとして認識し、肺炎球菌を一気に捕獲排除する NETs を作動させるのではないかと推察している。今後の研究課題として、この  $\alpha$ -enolase を NETs 免疫系の作動因子として、感染制御に応用することを目指している。

最後の課題は、「DNA オリガミ」型ワクチンアジュバントの開発である。「DNA オリガミ」法は、一本鎖型 DNA に相補 DNA を編み込んで、DNA を任意の二次元構造に加工・固定する技術である。この技術を用いて、免疫賦活化作用のある CpG モチーフをより機能的に配置するデザインを構築している。現在のところは、様々な「DNA オリガミ」体のプロトタイプを構築し、原子間力顕微鏡装置でナノ検証を終え、*in vivo* の萌芽的な試みと予備的なデータを報告させていただく段階である。「DNA オリガミ」のアジュバント効果が証明されれば、実用化済みの様々なワクチンの量的減少にも繋がる可能性があり、ワクチンで問題とされる副反応の懸念も減弱できると推察している。

以上、これらの3課題をお示しすることで、松本歯科大学の皆さまと一緒に歯学研究とイメージングの可能性を議論できればと考えている。

日 時：2015年11月5日(木) 17時30分～19時00分

場 所：実習館2階 総合歯科医学研究所セミナールーム

### 第334回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：専用ジェルを用いた口腔ケアの有益性について

演 者：角 保徳（国立長寿医療研究センター歯科口腔先進医療開発センター・センター長）

講演要旨：

近年、継続的な口腔ケアを行うことで、誤嚥性肺炎や低栄養の予防ができることが報告され、口腔ケアは単に口腔衛生の予防的手段ではなく、高齢者の QOL の維持向上や全身疾患の改善や健康増進に向けた医療の一環と考えられるようになりました。誤嚥性肺炎予防策として、要介護高齢者に対する口腔ケアを実施した結果、肺炎が予防できたとの報告がある一方で、口腔内細菌が口腔ケアによって気管や肺に入り込むことにつながり、医原性に誤嚥性肺炎を引き起こす可能性が指摘されています。過去の事例を紐解くと、看護師による口腔ケア中の死亡事例の報告や口腔ケア後の死亡事例の多額な損害賠償判決も報告されており、口腔ケア時のリスク管理の必要性が強く示唆されています。

口腔ケア施行時に医原性に誤嚥性肺炎を引き起こす可能性については、口腔ケア時の洗浄水や汚染物の回収が重要なポイントと考えられます。口腔ケアを行っている病院、施設、在宅の多くは、汚染物の口腔外への排出に水を使った口腔ケアを行うことが一般的と考えられます。多くの場合は、スポンジブラシや医療用吸引装置などで除去できますが、水がのどの奥に流れても、患者さんは気が付かない、いわば不顕性誤嚥を起こすことも否定できません。

そのような事態を防ぐ手段のひとつとして、国立長寿医療研究センターでは「誤嚥リスクを低減する、水を使わない口腔ケア」を実施しています。現在の市場で口腔湿潤剤が多く使用されている中で、口腔ケア時に使用されるジェルの特性を検討し、口腔ケアを行う為の適した物性を評価し、口腔ケア専

用ジェルを新規に開発しました。

今回のセミナーでは、口腔ケア専用ジェルとして新規に開発した「お口を洗うジェル」の特長や使用方法と、当センターで実施している「誤嚥リスクを低減する、水を使わない口腔ケア」である、専門的口腔ケアの具体的な手法を合わせご紹介させていただきます。

日 時：2015年9月28日(月) 18時00分～19時30分

場 所：実習館2階 総合歯科医学研究所セミナールーム

### 第335回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：RANKL-RANK シグナルによる腸特殊上皮 M 細胞分化制御機構の解明

演 者：木村 俊介（北海道大学大学院医学研究科解剖学講座組織細胞学分野・助教）

講演要旨：

口腔、鼻腔、腸管など粘膜に覆われる組織には外来抗原への防御機構として粘膜免疫機構が発達している。扁桃、小腸パイエル板に代表される粘膜関連リンパ組織の特長は、上皮を介して抗原を取り入れることにある。M 細胞は抗原取り込みに特化した上皮細胞であり、粘膜バリアの中核を担う。近年 RANKL-RANK シグナルが腸管 M 細胞の分化に必須であることが示され、M 細胞研究に大きな転機が訪れた。本講演では M 細胞に関する最近の知見と、合わせて RANKL-RANK シグナルによる粘膜バリアの恒常性維持機構について考察したい。

日 時：2015年11月12日(木) 17時30分～19時00分

場 所：実習館2階 総合歯科医学研究所セミナールーム

### 第336回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：ドライマウスから考える全身の抗加齢医学

演 者：斎藤 一郎（鶴見大学歯学部病理学講座・教授）

講演要旨：

近年、「健康と若さを保ちながら年を重ねることを可能にする医学」として抗加齢（アンチエイジング）医学が確立されつつあり、これは単に寿命を延ばすのではなく、老化による心身の衰えを防ぎ、生活の質（QOL）を高く保ちながら、社会的な生産性を維持する事を目的とした医療である。抗加齢医学に基づく健康増進のための指導や療法は、厚生労働省が掲げる「健康日本21」を実現させるための新たな予防法としての具体的な取り組みでもあり、このことから歯科領域においても学術的な検証結果（EBM）に基づいた実践が望まれている。

この抗加齢医学における歯科医学の役割は大きく、口腔が全身の健康に深く関与していることは周知である。しかしながら、口腔機能の維持や老化に伴う唾液の減少（ドライマウス）などの対応は普及しておらず、演者は現在4200名の歯科医師や歯科医療従事者で組織されているドライマウス研究会を主宰し活動している。このような唾液分泌への対応もアンチエイジング医学の実践に欠くことの出来ないテーマの一つである。

全身の均質な老化を目標とする抗加齢医学では歯科領域だけでなく医科との連携が不可欠であることから、演者は2005年より、日本抗加齢医学会の分科会として抗加齢歯科医学研究会を発足し現在2100名の会員と活動を行っており、本講演では抗加齢医学の現状について概説する。

日 時：2015年12月10日(木) 18時00分～19時30分

場 所：実習館2階 総合歯科医学研究所セミナールーム

## 第337回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：タンパク質架橋化酵素の高反応性基質配列の発見と表皮形成研究への展開

演 者：人見 清隆（名古屋大学大学院創薬科学研究科・教授）

講演要旨：

我々の体内には、タンパク質を不可逆に架橋接着させる酵素反応が存在する。このような架橋反応を受けたタンパク質はその機能が喪失されたり、重合化されて不溶化されたりする。この酵素は、トランスグルタミナーゼ（Transglutaminase ; TGase）と呼ばれる、カルシウム依存性の酵素で、特定のタンパク質のリジン残基とグルタミン残基の間に共有結合をつくる。

ヒトでは、8種類のアイソザイム（Factor XIII, TG1-TG7）が存在してファミリーをつくっており、各々が異なる組織で発現して機能分担している。例えば血液凝固の最終段階でのフィブリンの重合化（Factor XIII）、細胞死した際の内在タンパク質の架橋による漏出防止など（TG2）、様々な役割があり、皮膚表皮におけるバリア機能の強化にも、この酵素（TG1, TG3）が深く関与している。

表皮は基底細胞からの分化成熟に伴って、内部に様々なタンパク質が発現して機能を持つが、TGaseはここで、表皮内タンパク質を架橋重合させる。この架橋産物は、細胞膜直下で裏打ちする不溶性の構造体（CE : Cornified envelop）となる。

表皮細胞では、分化に伴って主に TG1, TG3の2種類が発現し、インボルクリン、ロリクリン、SPR等を架橋接着させ、CEの形成に貢献しているがその詳細な過程は不明である。

我々はこれまで、TG1, TG3の発現パターン、活性化機構について研究を重ねてきたが、近年、各TGaseを見分けて、酵素の高反応性で（グルタミン残基側の）基質となりうる「最小基質ペプチド」を見出している。この12残基のペプチドはファージ提示型のランダムなペプチドライブラリーから探索して同定したもので、以下のような活用で研究を進めている。

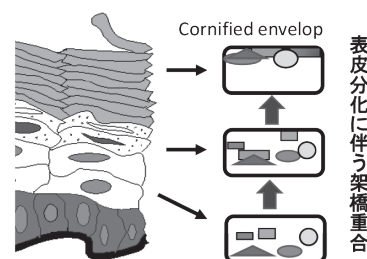
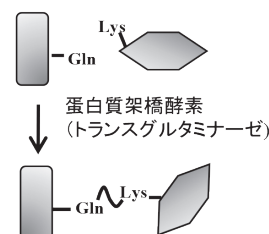
①最小基質ペプチドを蛍光標識し、表皮切片に滴下するだけで、活性の存在する細胞領域を瞬時に明らかにすることに成功している。これによって、TG1, TG3の含まれる組織や細胞の（単なる存在量でない）酵素活性を可視化できる。

②またビオチン標識したペプチドを用いて、表皮細胞抽出物から、基質（リジン側）の探索系を確立し、CEの構成分子となりうる新規タンパク質群を明らかにした。

今後は、表皮細胞の角化に至る過程で、本酵素がどのように細胞内のタンパク質を変化させていくのか、細胞系、タンパク質解析系を駆使して研究していきたいと考えており、これまでの成果を紹介したい。

日 時：2016年4月13日(水) 18時00分～19時00分

場 所：実習館2階 総合歯科医学研究所セミナールーム



## 第338回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：骨リモデリングの制御機構

演 者：中島 友紀（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子情報伝達学分野長・教授）

講演要旨：

骨の恒常性は、破壊と形成の動的なバランスにより保たれている。この再構築は骨リモデリングと呼

ばれ、強靱な骨を維持するだけでなく、生命維持に必須なミネラル代謝も制御している。破骨細胞が骨を壊すことで骨リモデリングは始まり、骨芽細胞によって骨が新生される。骨細胞は骨に埋め込まれた細胞であり、神経細胞様の細胞突起で骨表面の破骨細胞や骨芽細胞とも密接にコンタクトしている。この骨を構成する細胞間のクロストークが、力学的刺激やホルモンなど生理活性物質の感受・応答を可能とし骨の恒常性を制御している。

関節リウマチ、骨粗鬆症や癌の骨転移では、過剰な破骨細胞性骨吸収による骨破壊を生じる。一方、破骨細胞の分化・機能不全により発症する大理石病は深刻な骨系統疾患である。従って、骨の恒常性を適切に維持するために、生体における破骨細胞の分化・活性化は厳密に制御される必要がある。

破骨細胞は、RANKLの刺激によりマクロファージ系の前駆細胞から単核破骨細胞へ分化し、細胞融合によって多核化した成熟破骨細胞へと最終分化する。RANKLのシグナルは、マスター転写因子NFATc1を活性化することで、破骨細胞特異的な遺伝子を発現し、その細胞運命を決定して行く。この分化機構には、OPGやSema3Aなど細胞外での抑制機構に加え、細胞内におけるNFATc1の活性化・抑制機構が存在し、複雑で厳密な制御システムが形成されている。

日 時：2016年4月14日(木) 18時00分～19時30分

場 所：実習館2階 総合歯科医学研究所セミナールーム

### 第339回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：口腔細菌によるアミノ酸代謝物質の産生機構と口腔内への影響

演 者：吉田 康夫（愛知学院大学歯学部微生物学講座・准教授）

講演要旨：

歯周病原細菌の多くは嫌気性を示し、酸素存在下で生育することができない。それらの細菌は、エネルギーを得るために無酸素下で代謝活動を行うために、その過程において、好気性菌が産生しない様々な代謝物質を産生する。それらの代謝物質の一部は、有臭であることから口臭の原因物質として認識されてきた一方、歯周組織に有害性を示すことも報告されている。臨床的なデータの蓄積に反して、それらの代謝産物の産生機構については不明なことが多かった。

発表者らは、歯周病原細菌の代謝産物についての分子生物学的な研究を行ってきた。本セミナーでは、硫化水素およびインドールの産生機構について、新規産生経路やバイオフィーム形成に関与するそれらの分子の生物学的役割について言及する。また、近年研究を進めているプロピオン酸や酪酸などの短鎖脂肪酸の産生機構についてもご紹介する。酪酸は、口腔の上皮細胞や免疫細胞にアポトーシスを起こす等の為害作用があることが報告されており、酪酸等の短鎖脂肪酸は、*Porphyromonas gingivalis*などの限られた細菌だけがもつ経路によって産生されるので、歯周病のマーカーとしての臨床応用の可能性が示唆されている。実際、重度の歯周病患者の歯周ポケット内においては、健常人の10倍程度の高濃度で検出されることが報告されており、酪酸産生と歯周病との関連が示されている。一方、腸内において酪酸産生菌は、肥満や糖尿病に対して抑制的に働くことが次々に報告されており酪酸産生菌が衆目を浴びているが、その産生機構についての詳細は不明であった。そこで、歯周病細菌における短鎖脂肪酸の産生機構についてその一端を明らかにしたので、ご紹介する。併せて、酪酸が歯周病細菌の病原性に影響を与えることが明らかとなったので、そのデータをご紹介する。

日 時：2016年7月19日(火) 18時00分～19時30分

場 所：実習館2階 総合歯科医学研究所セミナールーム