

## 大学院セミナー報告(18)

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392回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：TGF- $\beta$ シグナルと結合組織発生—歯根膜・軟口蓋を中心に—

演者：岡 暁子（福岡歯科大学口腔歯学部成長発達歯学研究講座育成小児歯科分野・准教授）

発生学とは、胚の発生を研究する学問として捉えられ、ヒトにおいては受精してから出生に至るまでに胎児がどのように発達するのかを明らかにすることをテーマとしています。私は、'Craniofacial developmental biology 顎・顔面領域の発生生物学' をアメリカで学ぶ機会を得てからずっと、歯と口蓋の発生を中心に研究を行ってきました。私は、基礎研究に携わることができたことは、小児歯科臨床医であることにとってもプラスに働いていると感じています。これまでに大学院生や医局員と一緒に取り組んできた研究について、臨床医としての視点も少し加えながらお話しできたらと考えております。

#### 1. 顎・顔面発生における神経堤細胞の働きとコンディショナルノックアウトマウス

発生初期に神経管が形成される際、外肺葉の一部は上皮—間葉転換を起こし神経堤細胞となり、顎・顔面発生において神経・骨・軟骨・結合組織などを形成する細胞へと分化する。我々は、TGF- $\beta$ シグナルに関連する様々なコンディショナルノックアウトに現れた表現型解析しながら、顔面発生におけるTGF- $\beta$ シグナルの役割を研究してきた。

#### 2. 下顎骨および舌発生における TGF- $\beta$ シグナルの役割

神経堤細胞特異的にTGF- $\beta$ シグナルをノックアウトしたマウスに現れた小顎症の研究を行う中で、このマウスは、下顎骨そのものが小さいだけでなく、軟骨膜や骨膜に連続する腱組織などの結合組織にも大きな障害が発生していることがわかった。そこで、同じモデルマウスを用いて、TGF- $\beta$ シグナルが制御する軟組織・結合組織形成を、舌の発生も含めて観察した。

#### 3. 歯根・歯根膜発生における TGF- $\beta$ シグナルの役割

コラーゲン線維と並んで重要な線維である弾性系線維は、歯根膜中ではオキシタラン線維と呼ばれるユニークな線維として存在している。オキシタラン線維の主たる構成成分である Fibrillin1はマルファン症候群の責任遺伝子であり、さらにマルファン症候群ではTGF- $\beta$ シグナルの亢進が起こっていることがわかっている。Fibrillin 蛋白を組織学的に観察すると、Hertwigs' 上皮鞘周囲に多く発現していることがわかった。さらに、この Hertwigs' 上皮鞘がTGF- $\beta$ シグナルの制御を受けて歯根膜形成にも重要であることを明らかにした。

#### 4. 軟口蓋発生における TGF- $\beta$ シグナルの役割

TGF- $\beta$ シグナルを神経堤細胞特異的にノックアウトすると、完全口蓋裂を生じるのに対し、上皮特異的にノックアウトすると軟口蓋裂のみ生じる。このようなマウスの表現型の違いから、軟口蓋発生に注目して解析を行っている。口蓋形成時に口蓋間葉に発現する細胞外基質蛋白の中には、Periostin や Tenascin C といった軟口蓋に特徴的に強く発現しているものがあり、TGF- $\beta$ シグナルがこれらの蛋白発現を制御しているのかどうかを検討し興味深い知見を得た。

日時：2019年11月22日(金) 17時30分～19時00分

場所：実習館2階 セミナー室

## 第393回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：メラトニンと象牙質形成に関する最新の成果

演 者：三島 弘幸（鶴見大学歯学部歯科理工学講座）

本研究は、概日リズム同調因子メラトニンが象牙質の組織構造や石灰化へ及ぼす影響、また成長線の周期性との関連を組織学的、免疫組織学的及び分析学的に検討することを目的とした。

本研究は出生後5日、6日、7日令のSDラットを対照群（0.5%アルコール含有飲料水）、低濃度群（0.5%アルコール+20 $\mu$ g/mlメラトニン含有飲料水）、高濃度群（0.5%アルコール+100 $\mu$ g/mlメラトニン含有飲料水）の3群に分けて行った。PAM染色、TIブルー染色などを施し、低真空SEMや光学顕微鏡などで組織学的に検索した。なお、メラトニン受容体（MT1とMT2）の局在を免疫組織学的に検索した。また偏光顕微鏡、SEM、AFM、CMR分析、MALDI-TOF MS分析にて解析を行った。SPOT-Chem法により血清中のCaやPの濃度を測定し、LCMSMS分析にてメラトニン代謝産物を検索した。

対照群ではヘマトキシリンに濃染された成長線とヘマトキシリン淡染層が観察された。メラトニン投与群では成長線の間隔が狭くなっていた。メラトニン投与群の白歯象牙質中層と切歯象牙前質に、新たな成長線が認められた。メラトニン投与群では象牙前質中の石灰化球の数が増加し、大きさも増大していた。対照群と比較し、メラトニン投与群では象牙芽細胞の背が高く、より象牙芽細胞数が増加していた。また象牙芽細胞層に毛細血管が多く分布していた。象牙前質中の石灰化球の数が増加し、大きさも増大していた。ALP染色では対照群と比べてメラトニン高濃度群により強いALP活性が見られた。免疫染色では象牙芽細胞でMT1とMT2の発現が確認され、MT2に比べMT1の発現が強かった。メラトニン投与群では発現がより強く発現していた。夜間標本のメラトニン投与群では鍍銀染色においてコルクの線維がより明瞭にかつ多く分布していた。SEMでは、メラトニン投与群では、象牙質中のコラーゲン線維がより密に配列している像が観察された。偏光顕微鏡では対照群と比較して高濃度群では成長線間の層ごとに干渉色の違いが見られた。SEM-EDS分析やEPMA分析ではメラトニン投与群において、Ca及びPの含有量が増加していた。AFMでは、夜間のメラトニン高濃度投与群では対照群と比較し、結晶が均一な大きさで規則的に配列していた。X線回折において、対照群と比較し、高濃度メラトニン投与群ではアパタイト結晶のピークが明瞭に検出された。ラマン分光分析では、PO4<sup>3-</sup>ピークが高濃度群でピークが高く、半価幅も狭かった。メラトニン投与群ではPO4<sup>3-</sup>の分子配向性やアパタイト結晶性が良かったCMR分析では、メラトニンの量に応じて石灰化度がわずかに上昇していた。MALDI-TOF MS分析では2つのピーク（795m/zと818m/z）が増加した。これらのピークはI型コラーゲンの分解されたペプチドと推定された。夜間においてメラトニン投与により血清中のCaやP濃度の挙動に変化をもたらし、メラトニン代謝産物の量が増加した。

メラトニンが体内の血中組成に変化をもたらし、また象牙芽細胞の活性に影響を与え、象牙質の組織構造、成長線形成機序、さらに石灰化や結晶性に影響を及ぼしていると考察した。

日 時：2019年12月10日(火) 18時00分～19時30分

場 所：実習館2階 セミナー室

## 第394回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：脳研究から見えてきたこと

演 者：照沼 美穂（新潟大学大学院医歯薬総合研究科口腔生化学分野・教授）

「先生は脳の研究をしているのですよね？ 歯科と全然関係ない研究ですね」と言われることがある。私は歯学部の大学院で細胞内カルシウムシグナリングの研究をする傍ら脳神経科学の研究を開始し、今もメインのテーマとして脳神経科学研究を続けている。脳神経科学の面白いところは、人間が人

間らしく生きるために必要な「感情」や「認知」を生み出す仕組みの謎に自ら迫ることができることにあると思う。また、食べること（摂食・嚥下、味覚など）を制御しているのも脳であることから、歯学の分野においても脳機能についての理解が進んでも良いと感じている。脳は、神経細胞を介した信号の伝達によって機能しているが、実は神経細胞のネットワーク網だけでは正常に働かないことがわかっている。我々は最近、神経細胞よりも10倍以上も数が多いと言われているアストロサイトに注目して研究を行っている。その星のような外見から命名されたアストロサイトは、細胞体から多数の突起を伸ばして脳空間を満たしているが、実は血管から栄養を受け取って神経細胞に渡したり、神経細胞同士のつなぎ目であるシナプス間隙に溜まった神経伝達物質やイオンを除去することで、神経細胞の生存と働きを助けている。本セミナーでは、我々が最近特に注目している、アストロサイトが担う二大代謝機構であるグルタミン酸代謝機構と血中アンモニアの代謝機構について、我々の最新の研究結果も含めながら紹介したい。

日 時：2020年2月21日(金) 17時30分～19時00分

場 所：実習館2階 セミナー室

#### 第395回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：転写因子 NFATc1/NFAT2 と Siglec-15-DAP12 複合体を介した破骨細胞分化制御機構の  
解明

演 者：北川 教弘（奈良先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科バイオサイエンス領域・  
助教）

破骨細胞分化誘導因子 ODF/RANKL の発見と、前駆細胞を RANKL で刺激する *in vitro* 破骨細胞分化誘導系の開発は、破骨細胞の分化を分子レベルで理解する上で非常に大きなブレークスルーであるとともに、分子生物学・細胞生物学的手法を主に利用する研究者が骨代謝領域に参入し貢献するきっかけとなった。実際に我々のグループでも *in vitro* 分化誘導系を用いて、分化過程で発現変動を示す遺伝子群を網羅的に解析し得た。この結果は我々が転写因子 NFAT2/NFATc1 が破骨細胞の分化に必須であることを発見する端緒となった。

破骨細胞分化には RANKL-RANK シグナル経路とともに、アダプター分子 DAP12 を介した共刺激シグナル経路が必須である。DAP12 の下流の分子機序が明らかにされてきているのに対し、共シグナル経路を制御する機構は不明であった。この原因として、DAP12 と会合し共シグナル経路を制御する受容体の実体が不明であったことが挙げられた。我々のグループは NFAT2 制御下で発現するレクチン分子 Siglec-15 が、*in vitro* 分化誘導系における成熟破骨細胞の形成に必須な DAP12 会合受容体であることを報告した。本セミナーでは NFAT2 および Siglec-15 についての我々の研究成果を概説させていただくとともに、最近の研究から Siglec-15 が DAP12 会合受容体として必要なだけでなく十分であることを示唆する結果が得られているので合わせて紹介させて頂きたい。

日 時：2020年2月28日(金) 17時30分～19時00分

場 所：実習館2階 セミナー室

#### 第396回松本歯科大学大学院セミナー（中止）

タイトル：DNA 複製領域で染色体切断を起こす環境要因と歯周病菌の関与

演 者：花田 克浩（大分大学医学部附属臨床医工学センター・助教）

## 第397回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：賢い歯科医療消費者に

演 者：岡田 弥生（岡田やよい歯科健診クリニック院長）

歯を大切にしてほしい、「歯を抜かれた」と言わせたくないが原点。保健所で住民の多くが「胃をとられた」と言わないのに「歯を抜かれた」と言うのを耳にした。歯を他の臓器に比べて蔑ろにしているのではないか。自身の歯に対する冒瀆ではないか。

30年前には、医学書に加齢現象の1つとして「歯の喪失」が挙げられていたのだから、一般的な市民感覚として「齢をとれば歯は自然に抜けるもの」と思うのは仕方なかったのかもしれない。8020も杉並区を中心とした保健所歯科医仲間で8010（80歳で歯の喪失を10本以内に）と言い始めた頃は不評だったが、日本歯科医師会が8020にして全国に広がった。30年で老年医学も老年歯科医学も大きく変化した。今や健康長寿における歯の大切さは社会常識となっている。しかし、納得・満足の歯科治療か、まだ心許ない。

より良い医療を目指す「ささえあい医療人権センターCOML（Consumer Organization for Medicine and Law）」の「賢い医療消費者に」と、医療を消費者の目でとらえ、患者側からの働きかけ次第で医療が良くなるという活動を歯科医療でも取り入れたいと思った。「いのちの主人公・からだの責任者」として、歯も他の臓器と同じくらいの意識を持ってほしいと思う。医療の限界と不確実性があることを知った上で、納得して通院してほしい。自分に合った良い歯科医院を見つけて上手に付き合っていってほしい。受け手の側からより良い歯科医療を考え、医師・患者のギャップを埋めるコミュニケーションを考えたい。

歯だけが良くなることはない。草の根歯科研究会では職種を越えての勉強会、歯科患者塾に加えて、COMLの病院探検隊の歯科版として「歯医者さん探検隊」を続けてきた。しかし、「賢い歯科医療消費者に」の活動は、まだまだ摸索中である。歯科医療消費者というより「歯医者さん応援団」を増やすことができればと考えている。

日 時：2020年6月12日(金) 17時30分～19時00分

場 所：創立30年記念棟3階 大会議室（常念岳）