

研究所セミナー報告(1)

口腔生化学講座 宇田川信之

第3回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年4月13日(土) 午後3時より
場 所：実習館2階総合歯科医学研究所セミナールーム
演 者：山下 照仁 (ロチェスター大学・メディカルセンター病理)
タイトル：「骨吸収の制御機構における klotho 遺伝子産物の役割」

山下先生は東京大学薬学部を卒業、同大薬学系大学院生命薬学専攻博士課程を修了されています。その後、東京医科歯科大学難治疾患研究所の野田政樹教授の下で、骨形態に異常を示す klotho 遺伝子変異マウスを用いた一連の研究を行ってきました。現在は、ロチェスター大学 (Brendan Boyce 教授) にて、破骨細胞の分化に関する研究を継続されておられます。今回のセミナーでは klotho 遺伝子変異マウスから得られた klotho 遺伝子産物の破骨細胞の分化と骨吸収機能制御機構における役割について講演していただきました。

第4回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年4月19日(金) 午後5時30分より
場 所：実習館2階総合歯科医学研究所セミナールーム
演 者：奥村 茂樹 (松本歯科大学・口腔生化学)
タイトル：「細胞接着因子ギセリンの細胞機能に及ぼす影響」

奥村先生は、京都薬科大学・薬学部を卒業後、同大学薬学研究科・修士課程を修了されています。その後、大阪大学医学系研究科・情報伝達医学専攻博士課程に入学し、情報伝達薬理学講座 (三木直正教授) において、新規細胞接着因子・ギセリンの細胞機能に及ぼす影響について研究されてきました。

ギセリンは、Ig superfamily に属する細胞接着因子であり、元々、神経突起伸長因子 NOF の受容体として同定された分子です。本研究では、線維芽細胞にギセリンを発現させることにより、細胞表面微小突起 (microvilli) の伸長が認められることを、共焦点レーザー顕微鏡ならびに走査型電子顕微鏡を用いて明らかにしました。さらに、このようなギセリンの作用には、細胞内ドメインを介したアクチン細胞骨格系との相互作用が関与していることを示し、接着因子の細胞表面形態に及ぼす影響を考える上で、大変興味深い知見です。

第5回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年4月26日(金) 午後5時30分より
場 所：実習館2階総合歯科医学研究所セミナールーム
演 者：小林 泰浩 (総歯研・硬組織機能解析学)
タイトル：「歯槽骨リモデリングに及ぼすメカニカルストレスの影響」

小林先生は、長崎大学歯学部を卒業後、同大学歯学研究科に入学され、歯科矯正学を専攻されていま

す。歯科矯正臨床に従事する一方、長崎大学歯学部歯科薬理学講座（加藤有三教授）において、矯正力を負荷した時の歯槽骨のリモデリング機構について研究を進められてきました。

ご存じのように、骨は形成された後も、破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成を繰り返しています。歯科矯正治療では、このような歯槽骨のリモデリングを人為的に誘導し、歯槽骨内で歯を移動することにより、治療を行っています。しかし、矯正力を負荷した際の歯槽骨のリモデリング機構に関してはまだまだ不明な点が多く残されています。今回のセミナーでは、矯正力を負荷した際の骨吸収から骨形成の移行がどのようなメカニズムでおこるのか？についてお話をさせていただきました。

第 6 回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年 5月17日(金) 午後 5時30分より

場 所：実習館 2階総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者：山田 真英（総歯研・硬組織疾患病態解析学）

タイトル：「rhBMP-2・アテロコラーゲン複合体と吸収性膜の応用による顎骨欠損部の再建」

山田先生は、本学を平成 6年に卒業後、東京歯科大学大学院（口腔外科学）を修了されています。その後、同大学口腔外科で病院助手として臨床に携わってきました。

山田先生の東京歯科大学での主要研究テーマは、rhBMP-2を用いた顎骨欠損部の再建です。rhBMP-2の臨床応用には担体（徐放性）や形態付与などの問題があります。そこで、ウサギ（日本白色種）の下顎骨下縁に 6 × 4 mm の方形の骨欠損を作成し、この再建実験を行いました。rhBMP-2の担体にはアテロコラーゲンスポンジを用い、新生骨の形態付与のために吸収性膜を使用しました。対照群を含め計 4群の実験を行った結果、rhBMP-2による早期の骨形成促進作用、rhBMP-2の担体にアテロコラーゲンスポンジの有用性、rhBMP-2と吸収性膜の併用による新生骨組織の形態付与が可能であることが示されました。

第 7 回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年 5月24日(金) 午後 5時30分より

場 所：実習館 2階総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者：中道 裕子（総歯研・硬組織機能解析学）

タイトル：「軟骨由来細胞機能調節因子・コンドロモジュリン I の生体内における機能」

中道先生は、東京理科大学理学部化学科を卒業後、東京大学大学院農学生命科学研究科・応用動物科学専攻・修士課程を修了されています。その後、同大学同研究科の応用生命工学・専攻博士課程に進学し、分子細胞生物学研究所・核内情報研究分野（加藤茂明教授）において、軟骨由来細胞機能調節因子・コンドロモジュリン I（ChM-I）の遺伝子欠損マウスを作製し、生体内における ChM-I の機能について研究されてきました。

ChM-I は、現京都大学・再生医科学研究所の開祐司教授らにより、ウシ胎仔軟骨組織から、軟骨細胞の増殖促進・プロテオグリカン合成促進作用を指標に単離された因子です。その後、ChM-I は血管新生抑制因子であることも明らかになりました。本研究では、ジーンターゲット法により ChM-I 遺伝子欠損（KO）マウスを作製し骨組織を詳細に解析することで、KO マウスで骨密度増加があることを見出しました。さらに、KO マウスでは、骨代謝回転の低下が認められるが、骨吸収低下の度合いが骨形成低下の度合いより大きいために骨密度上昇に至ったことがわかりました。

これまでに、ChM-I は軟骨細胞の機能調節因子と考えられていたため、骨代謝における ChM-I の

役割を明らかにしたという意味で、本研究の結果は大変興味深い知見です。

第8回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年5月11日(土) 午後3時より

場 所：実習館2階総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者 1：伊藤 将広 (新潟大学大学院医歯学総合研究科・
顎顔面再建学講座・硬組織病態生化学分野)

タイトル：「破骨細胞のアポトーシスおよびビスフォスフォネートの作用機序について」

演 者 2：池亀 美華 (新潟大学大学院医歯学総合研究科・
顎顔面再建学講座・硬組織形態学分野)

タイトル：「張力刺激による骨形成促進機構の解明」

第9回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年6月7日(金) 午後5時30分より

場 所：実習館2階総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者：上田 青海 (松本歯科大学・口腔細菌学)

タイトル：「*Bacteroides fragilis* 群における薬剤排出機構について」

上田先生は愛知学院大学歯学部卒業後、同大学院歯学研究科口腔微生物学を専攻し、博士課程を2002年3月に修了されました。

今回お話していただいた内容は、偏性嫌気性菌の一つである *Bacteroides fragilis* 群における薬剤排出機構についての研究です。

B. fragilis 群は嫌気性菌感染症から最も頻繁に分離され、主に内因性感染症の原因菌として注目を受けている細菌です。しかも多くの抗菌剤に対し耐性を示すため、化学療法上、困難な細菌であると考えられています。本菌の持つ薬剤耐性の要因の一つとして、異なる構造を持つ複数の薬剤を菌体外に排出する多剤排出機構の存在が関与していることが明らかとなりました。そこで、2つのアプローチより薬剤排出遺伝子のクローニングを行った結果、薬剤排出(耐性)遺伝子を同定し、これらの遺伝子が *B. fragilis* の多剤耐性化の一助をなしていることが推測されました。

第10回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年6月13日(木) 午後5時より

場 所：実習館2階総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者：横瀬 敏志 (明海大学歯学部・保存修復学)

タイトル：「歯髄組織の発生と dentinogenesis」

横瀬先生は、明海大学歯学部を卒業後口腔病理学を専攻され、昭和大学歯学部において骨芽細胞の分化調節機構に関する研究を山口 朗教授(現長崎大学歯学部口腔病理学)の下で行ってまいりました。現在は明海大学にて歯科臨床に従事する一方、ラットの歯髄細胞を用いた培養系を用いて歯髄組織の発生に関する研究を行っております。今回、ラットを用いて歯髄細胞培養系の樹立について詳しい講演をしていただきました。

第11回松本歯科大学総合歯科医学研究所セミナー

日 時：2002年 5月29日(木) 午後 2時30分より
 場 所：実習館 2階総合歯科医学研究所セミナールーム
 演 者：堀内 博志 (信州大学医学部・整形外科)
 タイトル：「骨誘導因子 BMP の臨床応用について」

第12回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年 6月21日(金) 午後 5時30分より
 場 所：実習館 2階総合歯科医学研究所セミナールーム
 演 者：田中 弘文 (東京薬科大学生命科学部・ゲノム染色体機能学研究室)
 タイトル：「タンパク質修飾・分解による細胞周期の制御機構」

第13回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年 6月25日(火) 午後 5時30分より
 場 所：実習館 2階総合歯科医学研究所セミナールーム
 演 者：佐々木崇寿 (昭和大学歯学部・口腔組織学)
 タイトル：「破骨細胞の微細形態学的生物学」

硬組織を構成する細胞の機能を解析するには、細胞の機能に関与する様々なタンパク分子の組織・細胞内局在を *in vivo* で明らかにするとともに、培養細胞を用いた実験条件下での機能発現を分析する作業が必要です。また *in vitro* での研究は細胞機能をより直接的に解析する上で不可欠ですが、培養系で得られた実験データを *in vivo* に還元し、実験条件下で明らかになった細胞機能が、生体内でどのような意味を持つかを再検討することが重要です。

佐々木先生は硬組織の細胞機能に関与する特定の分子の組織・細胞内局在を *in vivo* で免疫組織化学的に検討し、次にその特異的阻害剤を用いて培養系における細胞構造と機能に対する直接的な効果を解析し、最後に再びその阻害剤を動物に投与して生体内における組織・細胞レベルでの作用を検討してきました。本講演においては、骨・カルシウム代謝の調節系の基礎的研究が臨床領域にも応用されつつあり、硬組織研究の成果が様々な代謝性骨疾患の病因・病態の解明、また臨床診断や将来の治療法の開発に寄与している成果についてもお話いただきました。

第14回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年 6月18日(火) 午後 5時より
 場 所：実習館 2階総合歯科医学研究所セミナールーム
 演 者：斎藤 一郎 (鶴見大学歯学部・口腔病理学)
 タイトル：「Reverse genetics による病因・病態解析-シェーグレン症候群発症機序の検討-」

斎藤一郎先生は昭和54年に本学を卒業後、日本大学歯学部病理学教室・米国スクリプス研究所・東京医科歯科大学難治疾患研究所・徳島大学歯学部口腔病理学教室を経て、2002年 4月に鶴見大学歯学部口腔病理学教室の教授に就任されました。

齋藤先生の専門は免疫学・分子生物学であり、自己免疫疾患のひとつであるシェーグレン症候群の発症機序を探る研究では世界的に有名です。1997年にはサイエンス誌に、シェーグレン症候群の病因抗原 (fodrin) の同定を發表し、更にその抗原成立機序に関する実験を發表されています。最近ではシェーグレン症候群の発症における IL-10 の関与やシェーグレン症候群の遺伝子治療の研究も行われております。セミナーにおいてはシェーグレン症候群に関する一連の研究について明快に講演されました。

第15回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年7月9日(火) 午後5時より
場 所：実習館2階総合歯科医学研究所セミナールーム
演 者：山口 朗 (長崎大学大学院医歯薬総合研究科・
発生分化機能再建学講座・硬組織分子病理学分野)

タイトル：「骨形成」

演 者：中島 友紀 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科
感染分子病態学講座 感染防御因子解析学分野)

タイトル：「破骨細胞分化因子 RANKL の細胞膜からの遊離とサイトカインによるその制御

第16回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年6月18日(火) 午後4時より
場 所：実習館2階総合歯科医学研究所セミナールーム
演 者：八巻真理子 (科学技術振興事業団)

タイトル：「単細胞生物から多細胞生物まで共通した細胞死機構の検討」

大腸菌や酵母などの単細胞生物は、無限に増殖しつづけ積極的な細胞死 (アポトーシス) は存在しないと言われてきました。しかし近年、単細胞生物のゾウリムシが200回ほど分裂増殖を繰り返すと、多細胞生物アポトーシスに類似した細胞死を起こすことや、出芽酵母の *CDC 42* (AAA-ATPase) 過剰発現株が、ある温度条件下で核の分断やクロマチン凝集を伴う「アポトーシス様の細胞死」を起こすことが報告されています。

八巻先生は、この「単細胞生物のアポトーシス」に注目し、出芽酵母を用いた詳細な検討実験を計画しました。その結果、① 酵母核内因子 *YOR 004 w* は大腸菌、酵母、動物細胞に共通したアポトーシス (細胞死) を制御すること、② 原核単細胞生物、真核単細胞生物でのアポトーシスは、真核多細胞生物のネクローシス様の形態変化も併せ持つこと、③ 基本的な「細胞死」の機構は原核単細胞生物から存在した可能性が高いことが明らかとなりました。

生命が単細胞から多細胞生物へと進化する過程で、「死の機構」は「生の維持機構」と密接に連動し、アポトーシス・ネクローシス両経路を含んだ機構からアポトーシス、ネクローシス機構への明確な分化まで複雑な制御系を作り上げたことが考えられました。

第17回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年7月29日(月) 午後3時より

場 所：実習館2階総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者 1：中村 浩彰（岡山大学大学院医歯学総合研究科・口腔形態学）

タイトル：「破骨細胞の extracellular signal-regulated kinase (ERK) について」

近年、破骨細胞のシグナル伝達系についてしだいに明らかになってきました。本セミナーでは破骨細胞の ERK について頭蓋骨器官培養系を用いた ERK のリン酸化阻害実験についてお話していただきました。MEK 1 阻害剤である PD 98059 添加により破骨細胞のアポトーシス、波状縁の消失が引き起こされ、ERK 局在は破骨細胞の明帯に認められることから、破骨細胞の ERK は細胞基質間作用に関与し、破骨細胞の細胞極性、機能を調節するものと推測されました。

演 者 2：佐々木朝代（新潟大学大学院医歯学総合研究科・摂食環境制御学）

タイトル：「尾椎を用いた軟骨内骨化の観察」

マウス尾部の矢状断切片を観察すると、連続的に椎骨の軟骨内一次骨化を観察することができます。このことを利用し、軟骨内骨化の段階における各種関連タンパク（オステオポンチン、アルカリ性ホスファターゼ、VEGF（血管内皮増殖因子）、基質分解酵素）の局在および発現を、血管侵入に着眼しながら組織学的・細胞学的に検索した結果について講演していただきました。

第18回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年7月29日(月) 午後5時より

場 所：実習館2階総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者：新井 嘉則（松本歯科大学総合歯科医学研究所・硬組織疾患制御再建学部門）

タイトル：「歯科医療に最適化された小型 X 線 CT の開発」

歯科領域では診断に口内 X 線撮影法やパノラマ撮影法が使用されてきました。しかしながら、これらの画像は 2 次元画像であるために顎骨や歯の複雑な形態を、立体的に把握することが困難でした。このため、複根歯の根尖病巣ではどの根が原因であるかなど各根ごとの病態の把握、歯根破折の状態、歯槽骨の吸収状態、下顎頭の形態異常、埋伏歯の診断など、的確な診断をすることが困難な場合があります。また、近年歯科インプラントをはじめとした歯科医療の高度化に伴い、顎骨を 3 次元画像で評価することが求められるようになりました。そこで新井先生は 1992 年より歯科医療に最適化した小型の X 線 CT の開発を開始し、1997 年世界に先駆けてその試作機を完成させその有効性と安全性について報告されました。この技術を日本大学国際技術育成センター（通称 NUBIC）からモリタ製作所（京都）に技術移転を行い、初の歯科頭頸部用小照射野 X 線 CT 装置として 3 DX マルチイメージマイロ CT が薬事承認されたわけです。このマイクロ CT はインプラント、埋伏歯の位置確認、歯根嚢胞、異物、歯性上顎洞炎、下顎管の位置確認などの 3 次元的な画像診断に有効であり、今後は本装置が普及することによって、3 次元画像を使用した予見性の高い治療が行うことが可能となると考えられます。

第19回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年8月30日(金) 午後5時より

場 所：実習館2階総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者：佐藤 隆史 (群馬大学生体調節研究所・細胞構造分野)

タイトル：「Conditional gene targeting 法 (Cre-loxP system) を用いたアンドロゲン受容体遺伝子欠損マウスの作製とその表現型の解析」

アンドロゲンは、雄性生殖器官の形成・発育・維持および脳の性分化などの多岐の生理作用発現に必須であることはよく知られています。アンドロゲンの生理作用は特異的核内受容体 (AR, androgen receptor) を介した標的遺伝子転写制御により発揮されます。本研究では、雌雄の個体におけるアンドロゲンの生理的役割を明確にするために、AR 遺伝子欠損 (ARKO) マウスの作出と解析を行いました。AR 遺伝子はX染色体上に存在し、オス ARKO マウスは生殖不能であるため、通常の方法では雌性 (XX) の AR 遺伝子欠損ホモ接合体を得ることは理論上不可能です。そのため、両X染色体上にAR遺伝子変異を持つ雌性のホモ接合体は自然界に存在しません。このことから、これまで雌性においてAR機能を真に評価することが出来ませんでした。そこで、本研究では Cre-loxP system を用いることで、まず AR 遺伝子上に loxP 配列を組み込んだ潜在的遺伝子欠損マウス (ARflox マウス) を作製しました。次に、この ARflox マウスを Cre リコンビナーゼトランスジェニックマウスと交配させることで、雌雄の ARKO マウスの作出に成功し、これら ARKO マウスの表現型の解析を行いました。

第20回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年9月13日(金) 午後5時より

場 所：実習館2階総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者：高田春比古 (東北大学大学院歯学研究科口腔病態・
生体防御学講座・口腔微生物学分野)

タイトル：「自然免疫と歯周病」

第21回松本歯科大学総合歯科医学研究所特別セミナー

日 時：2002年9月26日(木) 午後6時より

場 所：実習館2階総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者：王 宝禮 (松本歯科大学・歯科薬理学)

タイトル：「バイオフィームから齲蝕・歯周病を考える」

最近になって歯科界に登場したバイオフィームの歴史はまだ浅く、以前は大学の講義においてさえ、歯垢(デンタルプラーク)をバイオフィームとして捉えてはいませんでした。しかし今、バイオフィームの概念が、なぜデンタルプラークが齲蝕や歯周病を引き起こすのか、またなぜそれらの疾患の予防や治療に対して著明な効果を示さないのかということに対して解答を導きだしてくれています。

さて、歯科界にデンタルプラークをバイオフィームとして捉える国際学会 (14 th International Conference on Oral Biology : 口腔生物学国際学会) が、1996年にアメリカ・モンレーで開催されました。本学会のメインテーマは、Biofilms on Oral Surfaces (口腔内バイオフィーム) でありました。学会の講演では、現在も世界のバイオフィームの研究をリードする Costerton 博士がバイオフィームの概念を語り、その定義について「細菌集団を含んだマトリックスで、対象物の表面または境界面に付着し

ているもの」と提唱しておりました。この学会を境に日本の歯科界にも「バイオフィーム」の概念が普及しはじめたように思われます。その後、Costerton 博士は、1999年の『Science』誌にデンタルプラークがバイオフィームであると紹介され、この報告によりバイオフィームの概念が歯科界にさらに強く印象づけられたと思われます。最近では、口腔バイオフィームに関与する齲蝕や歯周病が「バイオフィーム感染症 (Biofilm disease)」としても称されてきました。今回、王先生には新しい角度で、バイオフィームから、齲蝕および歯周病についてお話ししていただきました。