

大学院セミナー報告(8)

大学院セミナーのタイトル, 演者, 講演要旨を報告します。

第205回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル: T-RFLP 法を用いた口腔内細菌叢解析システム

演 者: 中野 善夫 (日本大学歯学部化学教室・准教授)

講演要旨:

環境中に存在する細菌は、現在ではまだ培養できない種が大半を占めるといわれており、培養不能菌を含めた菌叢を網羅的に、且つ継続的に把握していく研究が注目されている。口腔内細菌は多種多数の細菌が複雑な相互作用に基づく生態系を構築しており、その種類は700を超え、半分以上が未だ培養できていないともいわれている。口腔内のさまざまな疾患、特に歯周病は単一種の細菌が引き起こすのではなく、複雑な構成の細菌叢と宿主との相互作用から生じるという認識があるにもかかわらず、本格的に口腔内細菌叢を網羅的に捕らえる方法が確立されていない。

そこで、すでにさまざまな細菌叢の解析に利用されている制限酵素末端断片長解析法 (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism; T-RFLP) に着目し、口腔内細菌の検出と同定の確立をめざした。一つの PCR 断片由来の異なる蛍光で標識された二つの切断断片は統計的に同じ挙動を示すという考えに基づき、サンプルの0.5%以上のピーク面積の割合のある断片のアラインメントを行なった後、すべてのピークの組合せの相関行列を得た。そのうち異なる蛍光標識の組合せから相関係数の高い対を選び、ピークの推定分子量を16S rRNA 断片分子量データベースと照合することで、細菌グループが候補として挙げられるようになった。それぞれの菌の推定含有率は、多数の分析結果を同時に扱うことで、一般逆行列による誤差を最小にする最小二乗法の考え方で容易に最適な解を求められるようになった。

この解析システムを用い、T-RFLP 分析結果をサポート・ベクター・マシンやニューラルネットワークを利用して口臭の原因物質であるメチルメルカプタンの濃度を予想できるかどうかを検討した応用例などを紹介したい。

日 時: 2009年10月2日(金) 17時00分~18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206回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル: How the Craniofacial Form Depends on Function, and the Potential for Using Cone Beam Computed Tomography

演 者: Arthur J. Miller (Department of Orofacial Sciences School of Dentistry, University of California at San Francisco, Professor)

講演要旨:

The craniofacial skeleton depends on periodic development of forces through its temporomandibular joints, dentition and directly where the muscles insert into the bone. Muscles provide continuous tension through the passive elastic components of the muscle tissue which surrounds the contractile

elements within the muscle cells. Muscles also develop active tension during swallowing, chewing, and speech, but the tension only exceeds 30% of the maximum muscle tension in less than 5% of a 24-hour period. Simulating tension developed by jaw muscles by using robotic models, incorporating human skulls that chew, show that the muscles induce continually changing tensile and compressive strain in the surface of the cortical bone both in the lateral and medial surfaces of the mandible, and well beyond the site of muscle attachment. Strain gauges placed on the surface of cortical bone in live experimental animals chewing, support the same concepts including demonstrating compressive strains in the neck of the condyle suggesting reaction forces on the condyle during clenching and chewing. Finite element models predict distortion and bending of the craniofacial bones during normal function like chewing. Genetically impairing the development of the jaw muscles in the fetus, or weakening the jaw muscles in the human during postnatal development due to neuromuscular disorders, alter the shape and size of the bones and the form of the craniofacial region. These studies of muscle and bone indicate that the craniofacial skeleton needs to have forces generated through it for normal development of shape, size, and mineralization. The data suggest that the craniofacial skeleton needs to have some continuous level of tension with periodic forces that are within a range and above a certain minimum threshold. The condyle also depends on a range of forces to maintain its normal shape. Developing asymmetrical forces on the condyle as with weakening jaw muscles on one side, or having the mandible continually close to one side results in changes in the condylar shape as well as developing an asymmetrical mandible. Frequent development of low forces will not support the normal shape of the condyle as seen with animals that have soft diets. The craniofacial skeleton will also adapt to much more complex functional changes as with total obstruction of the nasal passageway in the experimental animal. Increasing the resistance of the nasal passages above a certain threshold induces more mouth breathing which results in malocclusions and changes in mandibular shape and vertical facial dimension. The underlying factors that induce these changes in form are complex. With the application of cone beam computed tomography, the three-dimensional evaluation of the craniofacial skeleton and airway is feasible. The true growth of the craniofacial region can be described, and the underlying factors that modify this growth can be further analysed in well-designed experimental studies of the three-dimensional form.

日 時：2009年10月16日(金) 11時00分～12時00分

場 所：創立30年記念棟大会議室「常念岳」

第207回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：癌と骨破壊におけるプロスタグランジン E2 の役割

演 者：稲田 全規（東京農工大学大学院生命機能科学部門・准教授）

講演要旨：

プロスタグランジン E2 (PGE2 : Prostaglandin E2) は自然免疫や獲得免疫における全身及び局所における様々な炎症性疾患の発症に関与している。PGE2 の産生はホスホリパーゼ A2 (PLA2) による膜リン脂質からのアラキドン酸の遊離、2 型シクロオキシゲナーゼ (COX-2) による PGH2 への変換、PGE 合成酵素 (PGES : PGE Synthase) を経由して産生されることが明らかとなり、発熱や疼痛、血管拡張、胃液分泌抑制、子宮収縮、気管支拡張作用などへの関与が報告されている。我々は、これまで、LPS や IL-1 誘導性の骨破壊においては、これら経路を介した PGE2 産生が必須であることを報告してきた。

近年、乳癌や肺癌をはじめとして多くの癌細胞において COX-2 の高発現が示され、PGE 2 による癌の発症・増殖・転移への関与が示唆されている。臨床的には、NSAID 投与により乳癌の発症リスクが軽減されることも疫学的には示されているが、詳細は明らかでない。そこで、骨転移性癌における PGE 2 の関与を解析したところ、乳癌細胞では PGE 2 受容体のサブタイプ EP 4 を介して細胞増殖が亢進され、転移後の骨組織では、宿主である骨芽細胞による PGE 2 産生を促すことにより、破骨細胞形成を亢進させることを明らかとした。これらは、PGE 2 が乳癌細胞の増殖と宿主による骨破壊の双方に関与し、その亢進には主として EP 4 が関与する事を示している。本講演では、乳癌の浸潤・転移・増殖における PGE 2 の役割について、PGE 2 に関連する各種遺伝子の解析や PGE 2 受容体サブタイプの選択的作働薬・拮抗薬を用いた知見を紹介する。

日 時：2009年10月16日(金) 17時00分～18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208回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：口唇裂・口蓋裂治療 -咬合管理を中心に-

演 者：幸地 省子（東北大学病院附属歯科医療センター顎口腔機能治療部・准教授）

講演要旨：

口唇裂・口蓋裂治療の特色は、

1. 治療目標が複数である
2. 多くの専門家が係わる集学的治療である
3. 段階的治療である
4. 成長発育期全般にわたる長期医療管理である

の4つにまとめられます。治療の根本は、口唇裂と口蓋裂に対する初回手術および顎裂骨移植術です。特に口唇裂と口蓋裂の根治手術が成長発育の旺盛な乳幼児期に行われるため、手術結果如何が以後の医療管理のありようを規定するといっても過言ではないでしょう。そして成長発育期にある患児の QOL を左右します。

東北大学病院においては、初回手術目的で形成外科に紹介された時点から顎口腔機能治療部での咬合管理を開始します。哺乳指導、離乳指導も、咬合発育の観点から個々の環境に応じて行います。というのも乳歯咬合形成期は顎発育が大きい時期であり、萌出した乳歯を使って咀嚼を学習する咬合形成に大切な時期と捉えているからです。

東北大学病院で行われている口唇裂・口蓋裂の治療管理を紹介するとともに、顎裂骨移植術を行って永久歯咬合形成した長期管理例を提示したいと思います。

日 時：2009年12月11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209回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：生きた動物生体内での動的機能分子形態像を探る；基礎医学的研究から臨床医学応用へ
進化

演 者 大野 伸一（山梨大学大学院医学工学総合研究部解剖学講座分子組織学・教授）

講演要旨：

【キーワード】

顕微鏡技術，組織細胞学，機能分子形態学，生体内凍結技法，クライオ生検法

【概略】

本研究の特徴は，凍結技法を用いて光顕・電顕標本作製過程での人工産物形成が少ない動物試料で，機能分子形態学的解析をしていることである．従来の一般的な細胞組織の形態学的研究では，臓器摘出後の浸漬固定法や灌流固定法が行なわれ，しかもアルコール脱水・包埋試料により検索されてきた．しかし，このような試料作製法では，固定・脱水・包埋などにもなう人工的な形態学的変化を避けることはできなかった．そこで実験動物およびヒト臓器組織を急速凍結後にレプリカ膜や凍結置換固定標本作製し，従来の形態像とは異なることを報告してきた．今では，ヒトや実験動物の細胞組織を従来の試料作製法と異なった凍結技法で解析することが，常時可能となっている．また循環血流を遮断せずに麻酔下実験動物の細胞組織を生体内で直接凍結採取する方法（生体内凍結技法）を独自に開発し，各種臓器の動的形態像も報告してきた．さらに，このような生体内において生理的および病的機能を営む各種臓器を，半自動的に凍結採取する生体内凍結装置も開発した．本装置により，生体内臓器の一部を直接に凍結後，切断して採取し，顕微鏡観察試料を作製することができる．すでに麻酔下マウス小脳や腎臓の生体内組織の一部を凍結後，切断採取したが，この小脳や腎臓組織が，従来の固定・脱水・包埋した形態像とは異なることが，確認された．このことは，正常血行動態が維持されたマウス小脳や腎臓では，神経細胞間隙や腎ネフロンが，生体内では動的に変化していることが示唆された．この生体内凍結装置は，従来に無い方法で生体内組織の急速凍結を可能にするもので，種々の血行動態下における虚血と酸欠影響の無い機能的形態像を保持したまま，電顕や光顕で観察可能な試料を作製することができる．したがって，本装置は基礎および臨床医学の発展に大いに寄与することが期待される．今では，新たに開発したクライオ生検法を用いることにより，実験動物以外にもヒト臓器の生体内機能を営む“真の細胞組織”の形態学的解析が，近い将来には同一個体で経時的に可能になると思われる．

日 時：2009年12月4日(金) 16時30分～18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210回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：リポポリサッカライド誘導歯周組織破壊に及ぼすリボソーム化ラクトフェリン経口投与の抑制効果について

演 者：宮内 睦美（広島大学大学院医歯薬学総合研究科口腔顎顔面病理病態学・准教授）

講演要旨：

ウシラクトフェリン（bLF）は，鉄トランスポーターファミリーに属する安全性の高い食品由来物質で，抗菌作用，抗炎症作用などを有する多機能蛋白質として注目されている．bLFは，リポポリサッカライド（LPS）刺激抹消血単球からのTNF- α 産生を抑制することが報告されている．一方，TNF- α はサイトカイン誘導能，破骨細胞性骨吸収活性を有し，LPSの誘導する歯周組織破壊におけるサイトカインネットワークの中心的役割を果たしている．我々はbLFのTNF- α 分泌抑制に着目し，bLFがLPS刺激によって誘導される破骨細胞形成に及ぼす抑制効果についてin vivoならびにin vitroにて

検討したので供覧する。

bLF は **in vitro** で **LPS** の誘導する破骨細胞形成を抑制する。

bLF の添加により *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* LPS (A.a.-LPS) 刺激後の ST 2 (骨芽細胞系細胞株) における TNF- α や RANKL mRNA 発現増加が抑制され, OPG mRNA 発現抑制が解消された。また, 骨芽細胞と骨髄細胞の共培養系への bLF 添加は LPS による破骨細胞形成を濃度依存的に抑制した。

bLF のリポソーム化は **bLF** の小腸からの吸収を高め, **bLF** の血液循環を介した全身への移行を促進する。

経口投与された bLF の大部分は胃で消化分化されるため, 臨床応用を考えた場合本来の機能を十分に発揮できないという問題点がある。Wistar 系雄性ラットを用いた *in vivo* 実験では, 胃での破壊を回避し小腸からの吸収を高めるためにドラッグデリバリーシステム製剤であるリポソーム (リン脂質 2 重構造膜) に bLF を封入したリポソーム化 bLF (L-bLF) を用いた。L-bLF 経口投与は, 投与 1 週間で LPS 刺激による末梢血単球からの TNF- α 産生を有意に抑制した。また, L-bLF 経口投与群では, 小腸の粘膜上皮細胞に bLF 陽性反応がみられた。また, 脾臓の細胞, 大腿骨の骨芽細胞, 軟骨細胞, 破骨細胞や歯周組織の骨芽細胞, 歯根膜線維芽細胞, セメント細胞, 象牙芽細胞などが bLF 陽性を呈したことから, リポソーム化することによって小腸への到達量の増加した bLF は, 小腸上皮細胞によって吸収され, 血流を介して全身へ移行し, 歯周組織細胞に作用し, LPS で誘導される歯周組織破壊に影響を及ぼす可能性が示唆された。

L-bLF 経口投与は **LPS** 局所投与後の歯槽骨組織における破骨細胞の増加や TNF- α 発現を抑制する。

L-bLF を 1 週間経口投与した後, 上顎臼歯歯肉溝から *E.Coli*-LPS を局所投与した。LPS 局所投与によってコントロール群では辺縁歯周組織における TNF- α 発現の上昇と接合上皮部への好中球の遊走や歯槽骨骨縁に沿った TRAP 陽性破骨細胞数の増加が観察される。L-bLF 経口投与は LPS 刺激によって誘導されるこれらの変化を有意に抑制したことから, 血流を介し歯周組織に到達した bLF が骨芽細胞をはじめとする宿主細胞に作用し, LPS 刺激による TNF- α 産生抑制を介し, 歯周組織破壊を抑制した可能性がある。

bLF の低濃度頻回投与は高濃度単回投与と同程度の抑制効果を示す。

L-bLF 経口投与群において血中で検出される bLF 量は極めて微量であることから, 低濃度 bLF の持続的作用が効果的な骨破壊抑制を誘導したと考え, 低濃度 bLF の頻回添加が骨芽細胞に及ぼす影響について *in vitro* で検討し, 単回添加群と比較した。bLF の頻回添加は, LPS 刺激による TNF- α や RANKL-mRNA 発現を, 高濃度の bLF 単回添加群と同様に抑制し, OPG の mRNA 発現の抑制も解消した。微量の bLF が, 歯周組織局所で持続的に存在することで, より効果的な歯槽骨吸収抑制を発揮すると推察された。

以上, L-bLF 経口投与が歯周炎の発症, 進展, 増悪を制御する歯周炎の有効な予防ないし治療方法となる可能性が示唆される。

日 時: 2009年12月21日(月) 16時00分~17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211回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：通常透過電顕で不詳の構造の解明に無包埋切片電顕がどれだけ寄与出来るか？ -細胞内はゲルかゾルか？および、腎臓糸球体濾過膜は本当に膜か？を例に-

演 者：近藤 尚武（東北文化学園大学医療福祉学部・教授）

講演要旨：

昭和時代の後半は透過電顕による細胞組織微細構造の解明の黄金期であり、その大半が解明され、その為に今や、研究者の微細構造への関心の低さは眼を覆いたくなるご時世である。その黄金期になった最大の理由は、脂質を含む構造物だけが化学固定と染色で得た電子密度（黒さ）を包埋剤（エポン樹脂）のものより高く保つことに依るのであった。しかし、タンパクだけで出来た構造・物質の多く（細胞骨格線維とリボソーム以外、但し前者はそれ故に同定が遅れた）はエポンに比して充分高い黒さを得られず不明瞭のまま、それ故に教科書的記載から無視されざるを得なかったのが事実である。この不明瞭さを解消させるべく無包埋切片電顕法が30年前から開発・成熟されたが、残念ながら広く人口に膾炙されることなく、開発者の一人である筆者だけが現在国内外でその方法に携わっているのが平成時代の現状である。その無視されてきた観察対象には副題に記した2点が含まれ、それらの解明は各々細胞生物学的に重要な意味をもつと思われる。その模索と答えの一端を自己所見に基づいて紹介しご批判を得たい。

日 時：2009年12月18日(金) 16時00分～17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212回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：再生をめざした歯の形態形成メカニズムの解明

演 者：福本 敏（東北大学大学院歯学研究科小児発達歯科学分野・教授）

講演要旨：

近年の再生医療技術の進歩により、歯の再生も現実的なものとなってきた。具体的には、胎児期由来の細胞を再構成することで、人工的な歯の形成が可能となってきた。しかしながら、機能的な歯の形態を有する歯の再生には至っておらず、再生に利用する為の細胞の供給源に関しても、臨床応用する為には十分確立された技術となっていない。我々は機能的な歯の再生を行う為に必要な、歯の形態形成メカニズムの解明を行ってきた。そのなかで、歯の数や頬舌幅を決定する分子メカニズムの一部を明らかにしたので紹介する。また、細胞の供給源として乳歯由来の歯髄細胞に着目している。そこで歯髄細胞から歯髄幹細胞の同定とその機能解析の手法、さらにはiPS細胞からエナメル芽細胞への分化誘導法についても紹介する予定である。

日 時：2010年2月4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213回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：破骨細胞分化における正と負のシグナルのバランス維持機構

演 者：高柳 広（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・教授）

講演要旨：

近破骨細胞の分化は、RANKLと免疫グロブリン様受容体を介したITAMシグナルに依存して誘導

される転写因子 NFATc1 によって推進される。我々は、これまで分化推進シグナルに注目して解析を行ってきたが、今回は負のシグナルに注目し、正と負のバランス調整に焦点を当てた研究を紹介したい。

IRF8 など、活性化マクロファージを誘導する因子は、破骨細胞分化過程で発現が抑制される（脱抑制）ことが必要である。この脱抑制のメカニズムを解明するため、B 細胞系列の最終分化において初期分化因子を抑制する Blimp1 に注目した。Blimp1 欠損マウスは破骨細胞数が減少し、骨量増加を呈した。Blimp1 は NFATc1 標的遺伝子であり、種々の分化抑制因子の発現抑制に関与することで破骨細胞分化を推進する因子であることが明らかとなった。

また、破骨細胞分化に必須な ITAM を有する因子の一つである FcRgamma は、免疫細胞では Fc 受容体のアダプターとして機能するが、Fc 受容体の破骨細胞分化における意義は不明であった。抑制受容体 FcγRIIB の欠損マウスと活性化受容体 FcγRIII の欠損マウスが意外にも同様の破骨細胞増多による骨量減少を呈するメカニズムを解析する中から、免疫グロブリンを介した破骨細胞分化制御機構が明らかになった。

細胞分化は、生体に加わるさまざまな要因に応じて適切に制御される必要があり、正と負のシグナルが複雑なネットワークを形成してこのような制御を可能にしていると考えられる。

日 時：2010年2月12日(金) 15時00分～17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214回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：Calcitonin and gp130 cytokines—new regulators of the osteocyte—（カルシトニンと gp130 サイトカイン—骨細胞における新しい制御因子—）

演 者：Thomas John Martin（メルボルン大学セントビンセント医学研究所・名誉教授）

講演要旨：

ジャック マーチン先生は、オーストラリア生まれ、メルボルン大学医学部を卒業され、メルボルン大学セントビンセント医学研究所の所長を永く務められました。現在も、メルボルン大学の名誉教授や多くの製薬会社の顧問として研究活動に従事され、世界を駆け巡っておられます。

マーチン先生は、悪性腫瘍の骨転移の際に認められる高カルシウム血症の原因物質として、副甲状腺関連タンパク質（PTHrP）を世界に先駆けて発見されたことで有名ですが、ライフワークとしては、骨形成と骨吸収のカップリング現象を探る「骨細胞生物学」がメインです。

この度、京都で開催される国際内分泌学会（ICE 2010）における講演のため来日されるので、松本歯科大学での大学院セミナーをお願いしました。今回、骨細胞における gp130 関連サイトカインとカルシトニンの新しい作用に関する最新の実験結果をお話していただく予定です。

日 時：2010年3月31日(水) 16時00分～17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215回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：外科的矯正治療の留意点—形態と機能、そして心理社会的影響—

演 者：末石 研二（東京歯科大学歯科矯正学講座・教授）

講演要旨：

矯正歯科に訪れる患者の多くは審美的な主訴を持ち、社会心理的問題の軽減を求めている。そして私

たちの持つ治療体系は、口腔模型、セファログラム、などの診断資料と精密な歯牙移動を行い得るマルチブラケット装置であり、多くの目標は形態の分析とその改善に当てられる。形態すなわち顎骨ならびに歯の配列と対向関係の改善が機能的な調和をもたらすことが期待され、ほとんどに良好な結果を得ている。外科的矯正治療においても近年の画像診断技術の進歩により形態的不正の部位と程度は定量的に判定され、手術精度の向上もあり、計画した改善がほぼ得られるようになった。しかしながら、術後あるいは保定時において、治療結果の安定を欠く症例を少数ではあるが経験する。そのような外科的矯正治療後の変化は、手術や矯正治療の技術的側面もあるが、治療結果に対する口唇や舌の機能的適応の如何に左右されるものと考えられる。さらに、口腔機能の不全が問題となる症例の場合、顎変形症患者のもつ口腔機能を定性的、定量的に評価し、術後の改善と形態的变化の関連を評価することが治療上欠かせないものといえる。

このような形態と機能の調和を評価するため、口腔機能に関する多くの研究がなされている。顎口腔機能は咀嚼、嚥下、発音に代表され、口唇、舌に関する口腔機能の評価には、1. ビデオ、X線画像記録による運動動態の観察、評価、2. 圧センサーによる口唇、舌圧の評価、3. 筋電図による評価、4. パラトグラフによる舌動態の評価などが行われている。さらに広義の意味での機能として、口唇、舌の安静時および習癖時の動態が重要であるといえる。

今回の講演では、東京歯科大学歯科矯正学講座の治療計画の立案法を紹介し、また顎口腔機能の矯正治療による変化についての文献考察を行う。さらに更に時間が許せば、心理社会的側面も含めた外科的矯正治療の留意点についても検討する予定である。

日 時：2010年5月20日(木) 17時45分～19時15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216回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：頭頸部領域における硬組織再生

演 者：辻極 秀次（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病態機構学講座・准教授）

講演要旨：

近年、幹細胞の多分化能が明らかになり、心筋梗塞等、さまざまな疾患において再生医療への応用が期待されています。歯科領域においても例外ではなく、幹細胞を用いた新しい歯科再生医療法の確立が試みられています。

組織の誘導には、1) 組織の元となる幹細胞、2) 目的の細胞に分化誘導するための各種成長因子、3) 細胞が分化するための微小環境が必要不可欠であり、これらの要因が整って初めて組織再生が可能になると考えられます。我々は、歯科領域における再生医療の基礎的研究として、これら「幹細胞・成長因子・細胞環境」に焦点を絞り、主に硬組織再生に関する研究を押し進めてきました。

- 1) 幹細胞に関する研究では骨髄幹細胞の分化能について検討しており、同細胞が中枢神経系細胞、歯髄、歯根膜、骨組織等、頭頸部領域の様々な細胞に分化することを確認しています。また、歯髄から得られた象牙芽細胞株の解析を通して、骨髄幹細胞を象牙芽細胞に分化誘導するための検討を行っています。
- 2) 成長因子に関する研究では、固定化という方法を用いて、活性を増強させる研究を行っています。
- 3) 細胞環境に関する研究では、コラーゲン、ハニカムタイプβTCP等を用いて、scaffoldの有用性について検討しております。

本セミナーでは以上の内容について、御紹介させていただきたいと考えております。大学院生等、若い研究者の御参加楽しみにしております。

日 時：2010年6月10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217回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：歯周病細菌のヘム鉄結合性タンパク (HBP35)

演 者：中山 浩次 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科口腔病原微生物学分野・教授)

講演要旨：

歯周病細菌 *Porphyromonas gingivalis* はグラム陰性嫌気性細菌であり、40歳以上の成人の多くが罹患している慢性歯周炎の最重要細菌である。本菌はヘム鉄存在下で旺盛に増殖する。また、血液寒天培地上ではヘモグロビン由来の μ -oxo-heme dimer を菌体表面に蓄積し、黒色の集落を形成する。菌体表面にはヘモグロビンやヘムと結合するタンパクがいくつかあり、ヘムの獲得・利用に係わっていると考えられている。その一つは Hgp15タンパクであり、ヘム結合性がある。この Hgp15タンパクは本菌の主要なプロテアーゼ遺伝子 (*rgpA* や *kgp*) や血球凝集素遺伝子 (*hagA*) の内部領域にドメインタンパクとしてコードされており、polyprotein の形で菌体表面まで輸送され、そこで各ドメインタンパクに切断される。一方、HBP35タンパクも菌体表面のタンパクであり、C末端側にヘム結合性がある。また、N末端側にはチオレドキシシン様ドメインが存在する。HBP35タンパクの遺伝子 (*hbp35*) から糖鎖修飾を受けている可能性が高い50-90 kDa タンパク群、完全長の40 kDa タンパクおよびC末端側由来の27 kDa および29 kDa タンパクが産生される。50-90 kDa タンパク群と40 kDa タンパクは菌体表面まで新規に発見したタンパク分泌機構 (Por secretion system) (1) で輸送されるが、27 kDa および29 kDa タンパクは細胞質に存在している。*hbp35* 変異株はヘミン欠乏培地での増殖が著しく遅いことからヘムの獲得・蓄積に関わるタンパクと考えられる (2)。

参考論文：

- (1) Sato et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **107** : 276-81 (2010).
- (2) Shoji et al., BMC Microbiol., **10** : 152 (2010).

日 時：2010年6月22日(火) 16時00分～17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218回松本歯科大学大学院セミナー

タイトル：交感神経系活動はROSを介し破骨細胞分化を促進する

演 者：近藤 久貴 (愛知学院大学歯学部薬理学講座・助教)

講演要旨：

交感神経は骨芽細胞でのRANKLの発現を介し、破骨細胞分化を制御するが、交感神経が直接破骨細胞分化を制御するか否かそのメカニズムは未だ不明である。活性酸素種；ROS (Reactive oxygen species) は癌や生活習慣病、老化等、様々な病気の原因因子として注目されているが、近年骨粗鬆症にも関与することが示唆された。我々は本研究において交感神経シグナルがROSを介して破骨細胞分化を制御するか否か検討した。まずRANKL存在下で培養されたRAW 264.7細胞におけるROSを蛍光色素CM-H2DCFDAにて検出したところ、 β 作動薬のイソプレナリン (1, 10 μ M) はROSの産生を増加させ β 遮断薬のプロプラノロール (10 μ M) がイソプレナリンによるROSの増加を抑制することを見出した。またイソプレナリン (1-100 μ M)、およびROSである過酸化水素 (10 μ M) がいずれも破骨細胞分化のマスターレギュレーターであるNFATc1の遺伝子発現を有意に増加させ、さらに

RANKL により誘導される破骨細胞数を増加させた。プロプラノロールおよび抗酸化剤の α リポ酸は NFATc1 の遺伝子発現と破骨細胞の形成を抑制した。

次に C57BL/6J マウスに2週間のイソプレナリン投与 (5 $\mu\text{g/g/day}$) を行い脛骨海面骨の骨量、破骨細胞数の計測を行ったところ、イソプレナリン投与により、破骨細胞数の増加および骨量の低下が認められた。さらに骨の酸化ストレスの指標である過酸化脂質の増加が認められた。 α リポ酸の投与 (25 mg/g/day) をイソプレナリン投与と同時に行うと、イソプレナリンによる破骨細胞増加による骨量減少が抑制された。

以上の結果から交感神経活動が ROS の産生を増加させることにより破骨細胞分化を促進させる可能性を示唆した。

日 時：2010年7月8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