

先端科学・老化制御研究発表会プログラム

8月1日(月)

| | | |
|-------|---|-------|
| | | (司会) |
| 13:30 | 石川 博之： 学長挨拶 | (5分) |
| | 水田 祥代： 理事長の挨拶と所感 | (10分) |
| | 関口 睦夫： 先端科学と老化制御研究の現況と 今後の計画、学外評価委員の紹介 | (15分) |
| 14:00 | 梅津 桂子： 酸化ストレスとゲノム再編 | (15分) |
| | 林 道夫： ゲノム再編におけるクロマチンリモデリング 因子の働き | (25分) |
| | 橋口 一成： 酸化ヌクレオチドの浄化機構 | (25分) |
| | (討論) | (10分) |
| 15:15 | (休憩) | |
| 15:25 | 早川 浩： RNAの酸化と老化 | (15分) |
| | 石井 健士： 酸化損傷をうけた mRNA を排除する機能 | (25分) |
| | 関口 睦夫： 活性酸素 (ROS) の発生と作用を 制御する機構 | (15分) |
| | (討論) | (10分) |
| 16:30 | 終了予定 | |

8月2日(火)

(司会)

9:30 日高 真純: 損傷DNAによるアポトーシス (15分)

藤兼 亮輔: アルキル化損傷によって誘導される
アポトーシスの分子機構 (25分)

武石 幸容: ミスマッチ修復依存のアポトーシスに関わる
クロマチンリモデリング因子の解析
(25分)

林 健志: DNA損傷で誘導される細胞死に関わる
遺伝子の全エキソーム解析による探索
(15分)

(討論) (15分)

11:05 田中 芳彦: 免疫細胞の分化と遊走 (口腔内感染に
おける感染制御機構の解明) (15分)

永尾 潤一: 病原微生物と口腔医学からみた新しい
歯周病の病態 (25分)

有田 健一: 病原微生物のバイオフィルムに着目した
新しいう蝕予防法の開発 (15分)

(討論) (10分)

12:10~13:30 昼食

関口

梅津

- 13:30 進 正史： 歯の発生における MMP20 の機能解析 (25 分)
- 金子 高士： 歯周病細菌による IL-1 β 活性化における
グリブリドの抑制効果に関する研究 (25 分)
- 磯部 菜摘： 網羅的ゲノム解析による小児てんかん
症候群の病態解明 (25 分)
- 瀬野 恵衣： オートファジーによる口腔扁平上皮癌の
自己複製能の制御 (25 分)
- 湯浅 賢治： 口腔内超音波ドプラ像における舌癌の
血流増生像は悪性度やリンパ節転移の
予測因子である。 (25 分)
- 15:35 (休憩)
- 15:40 徳本 正憲： 高リン血症による血管石灰化に対する
カロリー制限の効果 (25 分)
- 松浦 尚志： 骨粗鬆症におけるコラーゲンと
酸化ストレス (25 分)
- 岡 暁子： 歯根発生における歯原性上皮細胞の
上皮 - 間葉転換の役割 (25 分)
- 嶋田 香： 医療系データからの知識発見 (25 分)
- 17:40 評価委員コメント
- 18:00 終了予定

田中

早川

《発表要旨》

(8月1日)

酸化ストレスとゲノム再編

○梅津 桂子、林 道夫 (生化学分野)

ゲノム再編や染色体異常は、がんの発生や進展の原因となる遺伝的変化をもたらすとともに、老化への関与も示唆されている。しかしながら、ゲノム再編を引き起こす DNA 傷害の分子実体については不明な点も多い。一方、老化の原因として酸化ストレスが大きく関与することも明らかになってきた。活性酸素は DNA やヌクレオチドを酸化して DNA 上に様々な損傷をもたらすことから、酸化 DNA 損傷が原因となってゲノム再編が引き起こされていることが考えられる。私達は出芽酵母をモデルにゲノム再編や染色体異常を分子レベルで解析する実験系を用いてきた。細胞を過酸化水素で処理すると、細胞内には染色体断裂が認められるが、それらが減少していくタイミングに一致して様々なゲノム再編が生じていることが分かった。DNA の酸化的損傷によって二重鎖切断の様な致命的な傷害が引き起こされ、その修復過程で染色体再編が生じていると考えられる。現在、内在的な活性酸素の発生に着目してゲノム再編や変異について研究を進めている。

ゲノム再編におけるクロマチンリモデリング因子の働き

○林 道夫、梅津 桂子

(生化学分野)

クロマチンリモデリング因子はヌクレオソームのヒストンをゲノム DNA から外したり、DNA 上で移動させるもので、複製、転写、修復など DNA 上の様々な機能に関与している。酵母には少なくとも 12 種類のクロマチンリモデリング因子が存在するが、このうち、Rdh54 は組換え修復を介して、ゲノムの再編に関わる。この Rdh54 を用いてゲノム再編におけるクロマチンリモデリング因子の働きや制御機構を明らかにする事を目指す。

酸化ヌクレオチドの浄化機構

○橋口 一成¹、梅津 桂子¹、関口 睦夫²

(¹機能生物化学講座生化学分野、²先端科学研究センター)

生物の正常な生命活動に伴い不可避免的に発生する活性酸素種は、核酸をはじめとして様々な生体分子を酸化する。細胞内の GTP や dGTP が酸化的塩基損傷を受けた結果として 8-oxo-GTP や 8-oxo-dGTP が生じるが、これら各々は RNA や DNA に取り込まれ、発現異常や突然変異の原因となりうる。大腸菌では MutT タンパク質がこれら酸化ヌクレオチドを一リン酸に分解することで、細胞内の酸化ヌクレオチドの浄化に寄与している。大腸菌 MutT ホモログ (MTH) は真正細菌からヒトまで高度に保存されており、ヒトでは 3 種類の MTH1、MTH2 及び MTH3 の酵素活性や基質特異性が明らかにされている。しかし生化学的解析が進められている一方で、細胞内機能解析の研究例は非常に乏しい。

そこで本研究では、CRISPR 法によるヒト MTH 遺伝子破壊細胞株の解析を通して、ヒト細胞における酸化ヌクレオチドの浄化に寄与すると考えられるヒト MTH の生理機能を細胞レベルで明らかにしていく。

RNA の酸化と老化

○早川 浩

(生化学、老化制御研究センター)

活性酸素は核酸を攻撃し様々な酸化損傷塩基を生じさせる。その中でもグアニンの酸化型である 8oxoG は DNA 中に存在すると突然変異を誘発し、mRNA 中に存在すると異常タンパク合成を引き起こす。生体はこのような核酸中の 8oxoG に対し、様々な防御機構を有すると考えられている。

我々は、これまでに酸化損傷 RNA に対する結合活性をもつタンパクを細胞から網羅的に検索し、PNP、YB1、そして Auf1 などのヒトタンパクを同定してきた。このうち Auf1 タンパクは 8oxoG を含む RNA に選択的に結合する。

本発表会では、酸化損傷 RNA の排除に関与すると思われる、これらのタンパクについて、これまでの成果を報告するとともに、酸化 RNA と老化との関連についてこれまでの知見を概説する。

酸化損傷を受けた mRNA を排除する細胞の機能

○石井 健士、早川 浩、関口 睦夫

(機能生物化学講座生化学分野化学教室、先端科学研究センター)

RNA の酸化によって生じる酸化損傷塩基 8-オキシグアニン (8-oxoG) はシトシンと対合するだけでなく、アデニンとも対合する能力を持つ。その結果、8-oxoG は遺伝情報の伝達において異常を引き起こす。この異常は細胞の恒常性を失わせ、ひいては細胞の老化、がん化、細胞死を誘導する。

そのような酸化ストレスに対する生体防御機構を明らかにするために、我々は酸化損傷 mRNA を細胞から排除する分子機構の解析を行っている。

我々は、酸化 RNA に優先的な結合性を示す因子として AUF1 タンパク質を同定している。AUF1 は酸化 RNA だけでなく 8-oxoG を含む oligo RNA 鎖にも選択的に結合する事から、RNA 鎖中の 8-oxoG を認識して結合している事が明らかになった。また、AUF1 を欠失させた細胞では酸化ストレス下で誘導される損傷 mRNA の分解速度が緩やかになる事も示されている。

以上の結果を踏まえ、AUF1 が酸化損傷 mRNA を特異的に識別し、分解に誘導する事で酸化ストレス下での細胞の恒常性を守る機構について紹介する。

活性酸素 (ROS) の発生と作用を制御する機構

○関口 睦夫、井口 八郎、伊東 理世子

(先端科学研究センター)

酸素利用に伴って細胞内で生じる ROS は様々な生体分子を酸化し、疾患や老化の原因となる。生体はそれを防ぐために酸化されたタンパク質や核酸を分解したり排除したりする仕組みを持っているが、ROS の生成やその作用を制御できるかどうか明らかでなかった。私達は大腸菌 *mutT* ミューテーターを用いる

と ROS の効果を鋭敏に検出できることに着目し、この系を用いて ROS の生成とその制御の機構を明らかにすべく研究を進めている。その原理と実験系について述べる。

(8月2日)

損傷 DNA によるアポトーシス

○日高 真純

(細胞分子生物学講座・分子機能制御学分野)

遺伝情報の本体である DNA 上に生じた損傷は突然変異を誘起し、その蓄積が発がんや加齢に伴う疾患の原因となる。生体はその第一の防御機構として DNA 修復酵素系を備えているが、それに加えて、DNA の傷を認識し細胞死を誘導する第二の防御策が発がんを抑制する上で重要であることがわかってきた。

損傷 DNA の 1 つである O⁶-メチルグアニンは DNA 複製過程で塩基ミス対合を形成し突然変異を誘起する。それを防ぐために、細胞はミスマッチ修復 (MMR) タンパク質複合体に依存して塩基ミス対合を認識しアポトーシスを誘導するが、その下流の分子機構については未だ不明な点が多い。そこで私たちは MMR 因子と生化学的あるいは遺伝学的に相互作用する因子を新規に単離し、それらのアポトーシス誘導における分子機能の解析を行っている。さらに、遺伝子の構造変化によるアポトーシス誘導能欠損細胞を単離し、新規のアポトーシス制御因子の同定にも着手し始めている。これらの解析により見出された新たなアポトーシス誘導の制御機構について考察したい。

アルキル化損傷によって誘導されるアポトーシスの分子機構

○藤兼 亮輔、日高 真純

(細胞分子生物学講座・分子機能制御学分野)

DNA のアルキル化損傷のうち O⁶-メチルグアニン(O⁶-mG)は、T と対合して O⁶-mG:T を生じ、ミスマッチ修復(MMR)依存のアポトーシスにより O⁶-mG:T は細胞ごとに取り除かれる。O⁶-mG:T に結合した MMR 因子によるアポトーシスの発動には幾つかのチェックポイントキナーゼが関わっていることが示されているが、その詳細な分子メカニズムには不明な点が多い。このアポトーシス誘導に関わる新規因子の同定のため、レトロウイルスを用いて作成した遺伝子変異ライブラリーからアポトーシスに異常を持つ細胞株をスクリーニングし、*Hmga2* 遺伝子を新規アポトーシス因子として同定した。ヒト子宮頸癌細胞 HeLa MR において HMGA ファミリー遺伝子の発現を siRNA を用いて抑制したところ、アルキル化損傷によるアポトーシスが有意に抑制され、種々のアポトーシス活性が低下していた。また、アルキル化剤に応答したチェックポイントキナーゼ CHK1 の活性化も *HMGA* 発現抑制によって低下していたことから、HMGA ファミリータンパク質は MMR によるアポトーシス誘導の初期過程に関与することが示された。さらなる新規アポトーシス因子の同定のために、MMR 因子と相互作用するタンパク質をアフィニティー精製して質量分析に供している。その *in vitro* 実験についても報告したい。

ミスマッチ修復依存のアポトーシスに関わるクロマチンリモデリング因子の解析

○武石 幸容¹、藤兼 亮輔²、関口 睦夫¹、日高 真純²

(¹先端科学研究センター、²細胞分子生物学)

ミスマッチ修復(MMR)は O⁶-メチルグアニン(O⁶-mG)などによって生じた誤対合を認識しアポトーシスを誘導する。ヒトの場合、O⁶-mG の誤対合は MutS α 複合体と MutL α 複合体によって認識されるが、DNA 複製は進行し 2 度の DNA 複製後にアポトーシスが誘導される。我々はこの現象に関わる因子として SMARCAD1 に注目した。SMARCAD1 はクロマチンリモデリング因子として同定されているが、細胞抽出液から MutS α 複合体のサブユニット MSH2 や DNA 複製の中心的役割を担う PCNA と相互作用することが知られている。SMARCAD1 欠損株を作成して MMR に依存したアポトーシスへの影響を調べ

た結果、野生株に比べてサブ G1 細胞の出現頻度、ならびにカスパーゼの活性化が観察され、アポトーシスの誘導が抑制されることがわかった。さらに SMARCAD1 が MMR 依存のアポトーシスのどの段階に関わっているかを明らかにするため、MNU 処理後の MutL α 複合体の集積を調べた。その結果、SMARCAD1 欠損株における MutL α 複合体の集積量は減少した。これらのことから SMARCAD1 の持つクロマチンリモデリング活性が MMR 複合体の形成を促進することで MMR に依存したアポトーシスを誘導すると考える。

DNA 損傷で誘導される細胞死に関わる遺伝子の全エクソーム解析による探索

○林 健志、竹内尚子、武石幸容、藤兼亮輔、日高真純

(老化制御研究センター)

アルキル化剤による DNA 修飾は、ミスマッチ修復 (MMR) 依存的に apoptosis を誘導する。これが発がん抑止機構の一つとされているがその詳細は不明である。そこでこれに関与する新たな遺伝子を、MNU 耐性獲得過程で変異あるいは増幅を起こした遺伝子として網羅的に検索することを試みた。

先ず、50 uM MNU 耐性細胞を単離し、これらを逐次高濃度の MNU 中で培養して最終的に 420 uM MNU に耐性の独立した 3 細胞種を得た。これらの細胞種及び親株の MR 細胞から DNA を抽出し、エクソームシーケンシングを行って、MNU 耐性獲得に伴うゲノム構造変化を解析した。その結果、一個の細胞種の第 6 番染色体長腕に増幅領域を認めたが、広域であるため、耐性に寄与する遺伝子を特定するに至っていない。更なる MNU 選択によって増幅領域を狭めることを試みている。また、上記 3 種の耐性細胞それぞれで、MMR 遺伝子の複数の変異に加えて、多数の遺伝子の de novo 変異が見られた。その大部分は段階的 MNU 選択の途上で蓄積された passenger 変異と見られるので、driver 変異を絞り込む方法を模索中である。一方、これら耐性細胞は不均一集団であることが疑われるので、クローニングによって変異が大幅に減少した株を得て、目指す遺伝子変化を絞り込むことを試みている。

免疫細胞の分化と遊走

(口腔感染症における感染防御機構の解明)

○田中 芳彦^{1,2}、永尾 潤一¹、成田 由香¹、有田(森岡) 健一²、橋本 麻利江¹、田崎 園子¹、池崎 晶二郎¹、安松 香奈江¹、長 環¹

(¹感染生物学分野、²先端科学研究センター)

口腔の二大疾患である「歯周病」と「う蝕(虫歯)」は特定の病原微生物が原因で発症し、その病態や治療法、予防法について社会的な関心を集めています。これらの口腔感染症には、免疫応答が関与していることが知られていますが、その詳細なメカニズムは未だに明らかにされていません。我々は、免疫細胞の分化・遊走に焦点をおき、病原微生物と宿主免疫応答の両側面からのアプローチにより、口腔感染症の生体防御における分子基盤を確立することを目的に研究を進めています。局所での感染が原因でおこる疾患と考えられてきた口腔感染症を、腸管を主体とする全身を介した免疫応答が制御する疾患として理解し、これまでの既成概念にとらわれない新しい発想で研究を展開しています。得られた成果を口腔感染症の治療法や予防法へ応用することを目指しています。

病原微生物と口腔医学からみた新しい歯周病の病態

○永尾 潤一¹、成田 由香¹、有田(森岡) 健一²、橋本 麻里絵¹、田崎 園子¹、江崎 晶二郎¹、安松 香奈江¹、長 環¹、田中 芳彦^{1,2}

(¹機能生物化学講座 感染生物学分野、²先端科学研究センター)

歯周病は、口腔内に常在する歯周病原細菌が原因となる感染症であり、歯の喪失の最も大きな原因となる。歯周病の発症と進行には、口腔内に常在する歯周病原細菌に対する宿主の免疫応答が関与し、インターロイキン 17(IL-17)産生を特徴とするヘルパーT細胞であるTh17細胞が歯周病病態形成に関連することが明らかになってきた。近年、腸管が免疫応答の重要な場であり、Th17細胞への分化は腸管で生じることが明らかになっている。本研究では、歯周病の病態形成を、腸管を主体とした全身での免疫応答として捉え、歯周病の病態と全身での免疫応答との関連性をヘルパーT細胞の分化と遊走に着目して解析する。我々は、歯周病原細菌の抗原性

に焦点を当て、Th17細胞への分化を誘導する歯周病原細菌のT細胞エピトープの同定を試みている。*Porphyromonas gingivalis* W83株を用い、これまでにTh17分化誘導能がある菌体成分を見出している。逆相HPLC、二次元電気泳動、プロテオミクス解析により、抗原タンパク質の絞り込みを進めている。また、*P. gingivalis* マウス感染モデルを構築中であり、*in vivo*での免疫応答の解析を進めている。

病原微生物のバイオフィルムに着目した新しいう蝕予防法の開発

○有田(森岡) 健一¹、永尾 潤一²、成田 由香²、橋本 麻利江²、
田崎 園子²、池崎 晶二郎²、安松 香奈江²、長 環²、田中 芳彦^{1,2}
(¹先端科学研究センター、²感染生物学分野)

口腔内の2大感染症の一つであるう蝕(虫歯)は、う蝕原性菌のバイオフィルム形成と深く関わっている。う蝕を防ぐ方法として、バイオフィルム阻害剤を用いる手法などの開発が試みられているが、病原微生物に対する免疫力に注目してバイオフィルム形成を予防する方法の開発は進んでいない。

本研究では、代表的なう蝕原性菌である*S. mutans*のバイオフィルム形成阻害を目的として、*S. mutans*を標的とした低分子化合物による阻害だけでなく、*S. mutans*に対する宿主の免疫応答に着目したIgA抗体の産生を誘導する*S. mutans*のT細胞抗原エピトープを同定し、免疫細胞の分化・遊走に焦点を当て、全身の免疫応答によるう蝕の病態を解明することで、う蝕に対する新しい予防法の開発へ向けた研究基盤を確立する。う蝕原性菌と宿主の免疫応答の両面的なアプローチによるう蝕の予防法の開発により、効率的にう蝕を予防できることが期待できる。現在、低分子化合物を用いて*S. mutans*のバイオフィルム形成を阻害しうるか*in vitro*で検証中である。

歯の発生におけるMMP20の機能解析

○進 正史、岡本 富士雄、鍛冶屋 浩、緒方 佳代子、岡部 幸司
(先端科学研究センター、細胞生理学分野)

歯のエナメル質形成にはamelogenin、ameloblastin等のエナメル質タンパク

がエナメルマトリックス中に分泌される。一方、これと同時にプロテアーゼである matrix metalloproteinase-20 (MMP20)や kallikrein-related peptidase-4 (KLK4)が分泌される。これらの酵素はエナメル質タンパクを分解し脱却することで、エナメル質の成熟化を促進する。ヒト *MMP20* 遺伝子の変異はエナメル質形成不全症を引き起こし、*Mmp20* 欠損マウスではエナメル質タンパクの分解不正やエナメル質の剥離が認められることから、MMP20 はエナメル質形成に必須の酵素であることがわかる。近年、新たに我々は MMP20 が細胞間接着分子カドヘリンを分解することを明らかにしており、エナメル芽細胞の細胞間接着や細胞骨格の制御機構について研究を進めている。本研究はエナメル質形成不全症の病態解明につながるものと期待している。

歯周病細菌による IL-1 β 活性化におけるグリブリドの抑制効果に関する研究

○金子高士、吉永泰周、古賀千尋、坂上竜資
(口腔医療センター、歯周病学分野)

IL-1 β は歯周炎の病態と強く関連している。歯周病原細菌による活性化型 IL-1 β の産生には Toll-like receptor 刺激による pro-IL-1 β 発現と、NLRP3、ASC そしてカスパーゼ 1 からなる NLRP3 インフラマソーム活性化の二つの経路が関与するがそのメカニズムは完全には解明されていない。一方、糖尿病治療薬のグリブリドは NLRP3 インフラマソーム活性化を抑制することで、LPS と ATP 刺激による IL-1 β 産生を抑制することが報告されている。そこで本研究では歯周病原細菌による IL-1 β 活性化メカニズムとグリブリドによる抑制作用に関して実験を行い、NLRP3 インフラマソームを標的にした歯周治療の可能性を探ることにした。

網羅的ゲノム解析による小児てんかん症候群の病態解明

○磯部 菜摘、鳥巢 浩幸、岡田 賢司

(総合医学講座小児科学分野)

【はじめに】てんかんの遺伝的要因は多岐にわたり、複数の要因が明らかにされているが、報告されている遺伝子で遺伝的背景を説明できる患者は一部に過ぎない。我々は、網羅的ゲノム解析により難治てんかん症候群の遺伝的要因と臨床像との関連性を検討した。【対象】福岡歯科大学医科歯科総合病院小児科、九州大学病院小児科に通院中で、大田原症候群、West 症候群、Lennox-Gastaut 症候群と診断された患者とその両親で同意が得られたもの。【方法】臨床情報を診療録より取得し、患者データベースを作成。末梢血検体より DNA を抽出し、アレイ CGH 解析を行った。【結果】現在までに、同意が得られた 12 名の West 症候群患者のアレイ CGH 解析を行った。コピー数多型として、欠失が 15q11.1-q11.2、9q34.3、16p11.2、重複が 8p11.22、8p23.2、14q11.2、6q27、10q11.21、6p21.32 の領域で確認された。これらの領域内の遺伝子について、データベース上の臨床情報と Web 上のゲノム情報を用いて検討を行い、pathogenic variants の抽出を行った。

オートファジーによる口腔扁平上皮癌の自己複製能の制御

○瀬野 恵衣¹、大野 純²

(¹総合歯科学分野、²再生医学研究センター)

癌の再発は、化学療法および放射線治療に抵抗性を示す”癌幹細胞(CSC)”の存在を意味すると考えられている。これらの癌を難治化に導く作用は、CSC の特徴の一つである自己複製能によるものと考えられる。また、最近の研究から、この治療抵抗性は「細胞内自食作用」を展開するオートファジーが関与することが示唆されている(”治療誘導性オートファジー”)。私たちは、口腔扁平上皮癌(OSCC)細胞において幹細胞の自己複製能を検索する sphere formation assay を応用して、CSC でのオートファジー誘導が同細胞群の自己複製能を制御する可能性を検討している。さらに興味深いことに、OSCC 細胞で発現するオー

トファジーは①STAT3 依存型と②STAT3 非依存型の 2 経路により誘導され、CSC の自己複製能を制御するのは STAT3 非依存型オートファジーによる可能性を報告した。これらの結果は、治療誘導性オートファジーによる癌難治化の概念に一致するものと考えられる。しかしながら、STAT3 非依存型オートファジーの詳細な分子メカニズムについては不明な点が多い。そこで、本発表では、癌を難治化へ導く STAT3 非依存型オートファジーによる CSC 自己複製能のメカニズムについて報告する。

口腔内超音波ドプラ像における舌癌の血流増生像は悪性度やリンパ節転移の予測因子である。

湯浅 賢治¹⁾、山本 千佳¹⁾、岡村 和彦²⁾、白石 朋子¹⁾、三輪 邦弘¹⁾

(1) 全身管理学講座 画像診断学分野、2) 生体構造学講座 病態構造学分野)

【目的】口腔扁平上皮癌の超音波ドプラ像を定量的に分析し、病理組織学的悪性度や頸部リンパ節転移の発現との関連を評価することを目的とした。

【方法】舌扁平上皮癌患者 18 名を対象とした。腫瘍内外の血流信号を定量評価するための指標として、腫瘍内部の血流信号の割合 BAR、腫瘍辺縁における血流貫通部位数の割合 BNR、腫瘍辺縁における血流貫通域の割合 BWR を考案し、これらの指標および腫瘍深達度と、浸潤様式(YK 分類)および頸部リンパ節転移の有無との関連を評価した。

【結果】腫瘍深達度と BAR については、YK 分類や頸部リンパ節転移との間に有意な相関を認めなかったが、BNR と BWR では頸部リンパ節転移の有無との間に有意差が認められた。また、YK-4 症例群は、YK-2 もしくは YK-3 症例群よりも有意に BWR が高値であった。

【結論】舌癌の腫瘍先進部の血管新生を反映した指標である BNR と BWR は、腫瘍悪性度や頸部リンパ節転移を予測する因子と考えられる。

高リン血症による血管石灰化に対するカロリー制限の効果

○徳本 正憲

(総合医学講座・内科学分野)

腎機能が廃絶した血液透析(HD)患者では、高頻度に高リン(P)血症が認められ、これにより生命予後が悪化することが報告されている。健常者と異なり、HD患者の死因の第1位は心血管疾患(CVD)で、これには高P血症に伴う動脈中膜の血管石灰化が大きく寄与している。一方、HD導入の原疾患の第1位は糖尿病(DM)性腎症で、このDM患者も、HD患者同様、動脈中膜の血管石灰化を有し、CVDを高頻度に合併することが知られている。このような経緯で、我々は血管石灰化に対する糖代謝障害の影響を検討している。近年、Klothoノックアウトマウスなどの検討により、高P血症が血管石灰化を含めた早期老化の一因であることが示唆されている。一方、カロリー制限が抗老化遺伝子サーチュインを活性化して老化を抑制することが報告されているため、現在我々は高P血症による血管石灰化に対するカロリー制限の抑制効果について検討を行っている。今回我々はこれまでに明らかになったことを報告する。

骨粗鬆症におけるコラーゲンと酸化ストレス

松浦 尚志

(咬合修復学講座・冠橋義歯学分野)

近年、骨粗鬆症の病因はホルモン分泌の低下による骨形成と吸収のアンバランス説から、酸化ストレスの直接的、間接的作用による説にシフトしてきた。酸化ストレスによる骨量の低下は、骨芽細胞の増殖と分化の抑制などによってうまく説明されるが、骨質の低下に関しては未だ不明な部分が多い。我々は骨粗鬆症において、骨質の重要な骨質決定因子であるコラーゲンの翻訳後修飾が変化(コラーゲン架橋の減少とリジン残基の水酸化の増加)し、コラーゲン線維の狭小化と線維間スペースの拡大を呈する基質変化が起こることを明らかにしてきた。そこで、酸化ストレスの骨芽細胞への直接的作用が骨粗鬆症と同様の基質変化をもたらすかどうかを調べることにした。H₂O₂を作用させた培養骨

芽細胞が分泌する基質をピクロシリウスレッド染色後の偏光顕微鏡下での色調変化で調べたところ、 H_2O_2 はオレンジ色～黄色から、黄色～緑色に変化させた。この色調変化は、 H_2O_2 の作用により骨芽細胞が分泌する基質は骨粗鬆症で認められるようなコラーゲン線維の狭小化と線維間のスペースの拡大を呈している可能性を示唆する。今後、基質変化の詳細を分析する予定である。

歯根発生における歯原性上皮細胞の上皮 - 間葉転換の役割

○岡 暁子、板家 智、緒方佳代子、田村翔梧、戸田雅子、吉良迪子、尾崎正雄
(成育小児歯科)

歯原性上皮由来の組織であるヘルトヴィッヒ上皮鞘は、歯乳頭や歯小囊といった歯原性間葉細胞と共役し、歯根形成を担っていると考えられている。しかしながら、ヘルトヴィッヒ上皮鞘が断裂するメカニズムや歯根と歯根膜形成に果たしている具体的役割などは殆どわかっていない。我々は、ヘルトヴィッヒ上皮鞘細胞株 HERS01a を TGF- β で刺激すると HERS01a 細胞において上皮 - 間葉転換が起こり、Periostin や Type I collagen および Fibronectin などの歯根膜結合組織を形成する細胞外基質蛋白を発現するようになることを見出した。この現象は、ヘルトヴィッヒ上皮鞘が歯根膜結合組織形成に関与していることを示唆している。

医療系データからの知識発見

○嶋田 香
(口腔保健学講座医療統計学分野)

医療系のデータから興味深さの指標を柔軟に設定して IF~THEN~型ルールの発見を実施しようとする場合、興味深いルールの候補が多数獲得されるため、臨床的にみて興味深いルールの選別方法の開発が求められる。知識発見に有効なルール選別アルゴリズム開発への取組みについて、医療系のデータを対象とした場合の現状と課題を述べる。また、ルールベースの予測・分類においては、

カバーできる対象事例拡大や信頼性向上が課題であり、汎化能力の獲得や諸指標への影響の観点から人工的欠損値の活用法を研究している。その概要と公開されている医療系データを用いた評価実験の結果について述べる。

講演 1: 8月3日(水) 9:30~11:00 501 講義室

最近のがん研究の動向

— 基礎から臨床へ、臨床から基礎へ —

岩熊 智雄

Associate Professor, Department of Cancer Biology, University of Kansas
Medical Center

私は 1991 年から 2 年間、九州大学医学部整形外科において主に骨軟部腫瘍の臨床を経験した後、関口先生の研究室で腫瘍遺伝生化学を DNA 修復酵素の解析を通して学ばせていただきました。1994 年は DNA 修復機構が **Breakthrough of the Year** を獲得した年であり、まさに DNA 修復が複製と並ぶ重要な細胞内機構であり、それが人の癌を含む多くの病気と関連している事が明らかになってきた時代でした。その後 20 数年間の分子生物学の進歩に伴い、癌研究も目覚ましい発展を遂げました。すでに癌が遺伝子の疾患であることは常識となり、基礎研究と臨床研究のギャップが徐々に小さくなったことにより、癌というものをより幅広く、また深く理解することができるようになってきました。中でも、ヒトの全ゲノム配列の解明、コンピュータによる遺伝子解析技術の向上、新たな遺伝子改変技術による癌のマウスモデルの進歩、癌のステムセルや代謝リプログラミングなど新しい概念の導入、エクソソームを含む癌の微小環境の重要性の確立、蛋白の立体構造解析を利用した分子標的薬の開発、癌の個別化治療の臨床応用、癌の免疫細胞治療の躍進など、次々と新しい知見が発表されてきています。今回は私の視点から見た、これら癌研究の最近の動向を中心にお話をさせていただきます。

軟骨代謝研究事始

— 軟らかい組織から硬い組織を使った研究へ —

鈴木 不二男

大阪大学・白求恩医科大学 名誉教授 (理学博士)

私は 1960 年、阪大・大学院理学研究科(赤堀研)を修了した後、不思議な御縁で竹田義朗先生のお供で阪大歯学部助手として生化学講座の創設に参画したものの、初期の十数年間は微生物やラットの肝臓あるいは脂肪組織など、**柔らかい組織**ばかりを相手にして一般的な生化学の研究に打ち込み、ATP クエン酸リアーゼの研究では「日本生化学会奨励賞」を受賞するなど、ある程度の成果を収めたものの、そのような研究は歯学部の人々には何ら関心と呼ばなかった。そこで**硬組織**を相手にして、しかも生化学的にも興味深い研究ができぬものかと模索していたところへ、整形外科から当教室へ研究に来ておられた下村 裕先生の「内軟骨性骨形成では成長軟骨細胞が最も重要な役割を演ずる」というお考えに共鳴し、当時、大学院生であった米田俊之君とともに、軟骨細胞から出発してどのような機構で骨がつくられるかという謎の解明に取り組んだ。その結果、哺乳類の成長軟骨細胞の培養に成功し、この細胞が特定の条件で骨形成能を発現するとともに、多くのホルモンや各種成長因子に応答することが分かった。その後、歯学部はもとより医、理、農学部をはじめ民間各社研究所などの多くの若い方々が、私が設定した問題に興味を持って頂いたお陰で、軟骨由来軟骨細胞増殖制御因子や腫瘍血管新生抑制因子などの同定、さらには成長軟骨細胞と骨髄細胞の逐次混合培養系や成長軟骨細胞の高密度浮遊培養系を利用した「軟骨細胞完全分化モデル系」の研究にまで発展させることができた。

8月3日(水) 14:30~16:00 第3会議室

コレステロール合成阻害薬による変異型 p 5 3 の分解と腫瘍増殖抑制のメカニズム

岩熊 智雄

Associate Professor, Department of Cancer Biology, University of Kansas
Medical Center

腫瘍抑制遺伝子 p 5 3 は転写因子として多くの遺伝子の発現を制御することにより、細胞増殖を抑制したり細胞死を誘発する。しかし、p 5 3 は癌細胞の中で最も変異の認められる遺伝子である。突然変異の殆どは DNA 結合部位に生じ、アミノ酸置換型のミスセンス変異である。これら変異型 p 5 3 は腫瘍抑制遺伝子としての機能を失うのみならず、癌の進行を増悪させる機能を獲得している。最近の知見により、変異型 p 5 3 が癌の進行を促進するには安定化が必要である、ということがわかってきた。逆に、変異型 p 5 3 をノックダウンすると、野生型 p 5 3 が欠損しているにも拘らず腫瘍形成能が低下することから、癌細胞の増殖は変異型 p 5 3 の存在に依存する、ということが明らかになった。そこで我々は、変異型 p 5 3 の分解を促進する薬剤のスクリーニングを行い、コレステロール合成阻害薬であるスタチンが、野生型 p 5 3 ではなく変異型 p 5 3 のみを特異的に分解する事を発見した。そのメカニズムとして我々は、コレステロール合成経路が抑制される事が、変異型 p 5 3 とヒートショック蛋白質 Hsp40 の結合を阻害し、それに伴う CHIP ユビキチンリガーゼの活性化が、変異型 p 5 3 の分解を誘導する事を明らかにした。これらの発見は、癌の治療薬としてのスタチンの有効性を支持するものであり、H s p 4 0 が変異 p 5 3 の分解を誘導する癌の治療法の標的に成り得る、ということを示唆するものである。