

口腔医学研究センターシンポジウム 2024

2024年12月6日(金)16時00分～

502講義室

★常態系プラットフォーム

日高 真純 教授(分子機能制御学分野)

「DNA損傷に応答したアポトーシス誘導によるゲノム防護機構」

★病態系プラットフォーム

田中 芳彦 教授(感染生物学分野)

「腸内環境がもたらす免疫応答による歯周病の重症化」

★再生系プラットフォーム

稲井 哲一朗 教授(機能構造学分野)

「ケラチノサイトの三次元培養系による角化および非角化重層扁平上皮の研究」

★歯学臨床系プラットフォーム

岡 暁子 教授(成育小児歯学分野)

「Tenascin C を中心とした組織発生研究から病態を理解するための病理学的研究へ」

★医学系プラットフォーム

谷口 奈央 教授(口腔健康科学分野)

「口腔マイクロバイオーームと全身の健康との関連に着目した口腔医学研究」

< Program >

司会：日高真純

◆ 16:00 センター長挨拶

◆ 16:05-16:35 (座長：田中芳彦)

「DNA損傷に応答したアポトーシス誘導によるゲノム防護機構」

常態系PF

日高 真純

◆ 16:35-17:05 (座長：稲井哲一郎)

「腸内環境がもたらす免疫応答による歯周病の重症化」

病態系PF

田中 芳彦

◆ 17:05-17:35 (座長：岡暁子)

「ケラチノサイトの三次元培養系による角化および非角化重層扁平上皮の研究」

再生系PF

稲井 哲一郎

休憩 (17:35-17:45)

◆ 17:45-18:15 (座長：谷口奈央)

「Tenascin C を中心とした組織発生研究から病態を理解するための病理学的研究へ」

歯学臨床系PF

岡 暁子

◆ 18:15-18:45 (座長：日高真純)

「口腔マイクロバイオーームと全身の健康との関連に着目した口腔医学研究」

医学系PF

谷口 奈央

◆ 18:45 センター副長挨拶

DNA 損傷に応答したアポトーシス誘導によるゲノム防御機構

常態系プラットフォーム

日高真純（分子機能制御学分野）

生物は細胞内外からの様々なストレスに対処するため、DNA 修復や細胞死といった応答機構を備えており、ゲノムの恒常性を維持している。ミスマッチ修復（MMR）複合体は、DNA 複製エラーを効率よく修復する活性を有するが、それに加えて、変異原性の損傷に応答して細胞にアポトーシスを誘導することが知られている。MMR タンパク質を欠損した細胞においては突然変異の蓄積が起こること、また、MMR 因子の遺伝的欠損は大腸がんや子宮内膜がん等を多発するリンチ症候群の原因となっていることから、このアポトーシス誘導機構の解明が、遺伝情報の安定化と発がん抑制の観点で生物学的そして医学的に重要であると考えられる。

MMR 複合体に依存したアポトーシス誘導の解析に着手したところ、我々は DNA 損傷応答に関わる ATR/CHK1 キナーゼが活性化して細胞周期を G2/M 期で停止させ、その後にアポトーシスを誘導することを明らかにしてきた。それと同時に、遺伝学的スクリーニング等によりアポトーシス誘導制御に関わる因子を数多く同定してきた。最近、より網羅的な同定を目的として RNA-seq 法を用いてアポトーシス誘導過程で発現変動する遺伝子群を同定したところ、発現上昇遺伝子群の多くが免疫応答関連遺伝子、発現減少遺伝子群の多くがクロマチン動態関連遺伝子に分類された。

その中から我々は現在、アポトーシス誘導制御に関わる新規因子として、免疫応答関連遺伝子としては interferon-stimulated gene 15 (ISG15)、そしてクロマチン動態関連遺伝子としてはセントロメア特異的なヒストンバリエント CENP-A に着目している。ISG15 タンパク質は2つのユビキチン様ドメインから構成されており、自らを多くの標的タンパク質に共有結合（ISGylation）することで発がん抑制を始めとする様々な生理機能を果たしていると考えられている。本シンポジウムでは、DNA 損傷応答とアポトーシス誘導における免疫応答経路とクロマチン動態の新たな機能、そして、それらのゲノム恒常性維持における役割について議論したい。

腸内環境がもたらす免疫応答による歯周病の重症化

病態系プラットフォーム

田中芳彦（感染生物学分野）

人生 100 年時代を迎えて健康寿命の延伸が社会課題となっている。自身の歯を多く残す人ほど健康を維持しやすく、入院回数が少ないことが明らかになっている。歯を多く残すには、歯周病の予防、早期発見と治療が重要になり、ヒト歯周病医療の予防法と治療法への応用を視野に入れた基礎的研究が必要である。近年、歯周病原細菌に応答してインターロイキン-17A（IL-17A）を産生するヘルパーT細胞 Th17 を介した免疫応答による病態の重症化が注目されているが、詳しい免疫応答のメカニズムは不明であった。

「口腔」は硬組織（歯）と軟組織（粘膜）から成る複雑な環境と独特な細菌叢をもつ一つの臓器である。歯周病がさまざまな全身疾患に関わることが解明され、また、口腔内細菌叢が腸内細菌叢に影響する「口腔（歯周病）→腸」の概念が定着してきた。一方、腸が口腔へ影響を及ぼす「腸→口腔（歯周病）」の逆ベクトルの研究は知られていなかった。

我々は、腸での免疫応答が歯周病の重症化を引き起こす仕組みをマウスで解明した。歯周病患者が一日に飲み込んでいる量の歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis*（*P. gingivalis*）を腸管に投与しておく、小腸の腸管関連リンパ組織であるパイエル板の樹状細胞に取込まれており、腸内細菌叢の影響を受けて「腸」で *P. gingivalis* に応答する Th17 細胞が誘導されていた。光照射で蛍光色素が変化する遺伝子改変マウスを用いて Th17 細胞を追跡すると、*P. gingivalis* の口腔感染を契機に「腸」から「口腔」へ移動して著しい歯槽骨吸収を起こしていた。一方、腸内細菌がないマウス（無菌マウス）では、Th17 細胞は誘導されず歯周病が起こらなかったため、腸内細菌が歯周病の発症に関わっていることが分かった。また、ある種の抗菌剤によってマウスの腸内細菌が乱れてしまうと、Th17 細胞の誘導が増強されて歯周病が重症化した。さらに、逆に歯周病の発症を抑える別種の抗菌剤があることも明らかになった。

このようにマウスでは腸内環境を変えることで歯周病の病態に影響を及ぼすことが明らかになった。ヒトでも腸と口腔の連関による免疫応答が歯周病の重症化に関わっているのならば、腸内環境をターゲットとした歯周病医療の予防法と治療法への応用が期待できる。そのためには、動物実験で明らかになった知見がヒトの医療へ展開されることを目指して、今後の研究を進めていく必要がある。現在、福岡歯科大学ならびに福岡看護大学が主体となり、福岡学園 口腔医学研究センターの複数プラットフォームが横断的に協働して、歯周病患者と健常者における歯周治療学的解析、影響要因の解析、腸内細菌叢のメタゲノム解析とメタボロミクス解析を実施している。本シンポジウムでは、福岡歯科大学医科歯科総合病院で取り組んでいる福岡学園の『歯周病と腸内環境』に関する臨床研究を併せて紹介する。

ケラチノサイトの三次元培養系による角化および非角化重層扁平上皮の研究

再生系プラットフォーム

稲井哲一郎（機能構造学分野）

口腔粘膜上皮は、基本的に非角化重層扁平上皮で構成されているが、歯肉、舌背の糸状乳頭、硬口蓋では角化重層扁平上皮がみられる。口腔粘膜上皮は常に新陳代謝（ターンオーバー）されており、その恒常性がいかに維持されているかを知ることは再生医療を考えるうえで重要である。また、口腔粘膜上皮には炎症、潰瘍、腫瘍などの様々な病変が生じることがあり、疾病により正常構造がどのように障害されるかを知ることも重要である。

我々は、上皮細胞間の接着装置（タイト結合、アドヘレンス結合、デスモソーム、ギャップ結合）に注目して研究している。口腔粘膜に上皮内水疱を形成する粘膜優位型尋常性天疱瘡は、デスモソーム構成膜タンパクの desmoglein 3 (DSG3) に対する自己抗体が原因とされている。そこで、はじめにマウスケラチノサイト(K38)を用いて、角化および非角化重層扁平上皮を再構築できる三次元(3D)培養系を確立した。K38 の増殖には血清が必要で、3D 培養系では非角化重層扁平上皮を形成する。血清中のビタミン A が細胞内で代謝されて生じるレチノイン酸(RA) が、核内受容体である RAR (retinoic acid receptor)・RXR (retinoid X receptor)ヘテロダイマーと結合し、角化を抑制している。RAR 阻害剤の BMS 493 を 0.2 μ M 添加すると角化を誘導することができた。ビタミン A はデスモソーム形成に抑制的に働くが、RXR 阻害剤 HX 531 を 0.5 μ M 添加すると、DSG1, 3 の層特異的局在が回復し、より生体に近い非角化重層扁平上皮を形成することができた。

次に、ゲノム編集技術を使って DSG3 遺伝子を破壊した K38 (DSG3KO)を作製し、2D 培養系において解析した。その結果、野生型の K38 と比べて DSG3KO では、DSG1 が細胞接着部位へ局在することが抑制されると同時に、細胞間接着が低下することが分かった。この結果から 2D 培養系においては、DSG1 は DSG3 の欠損による細胞間接着の減弱を代償できないことが分かった。今後、DSG3KO を使った 3D 培養系での解析を進める。

今回のシンポジウムでは、はじめに、これまでの研究歴について自己紹介を兼ねて簡単に紹介する。次に、福岡歯科大学に赴任後に 10 名の大学院生と行った研究の中で、特に重層扁平上皮の研究に絞って研究成果を発表する。最後に、今後の研究の展望について簡単に紹介する。

Tenascin C を中心とした組織発生研究から病態を理解するための病理学的研究へ

臨床歯学系プラットフォーム

岡 暁子（成育小児歯科学分野）

個体発生における組織・器官の形づくりや組織損傷の回復、癌をはじめとする病的組織において、細胞外マトリックスは大変重要な役割を果たしている。我々は、Tenascin C という細胞外マトリックス蛋白を中心にいくつかのプロジェクトを進めている。

Tenascin C 蛋白に着目したきっかけは、歯根膜組織中に存在する上皮細胞塊であるマラッセの上皮遺残がなぜその構造を維持できているのか解明するためのプロジェクトの中で、非常に特異性が高くハンドリングしやすい抗 Tenascin C 抗体に出会ったことにある。免疫組織化学染色が主たる実験技術である我々の研究チームにおいて、良質な抗体に出会うことは研究の進捗を大きく左右するため、いくつものプロジェクトの中でまずは Tenascin C の発現を確認することがルーティンになっている。

Tenascin C は、巨大な糖タンパク質で、脊椎動物の発生過程の胚、胎児に高い発現を示すため組織形成に重要であるとされているが、Tenascin C 欠失マウスは明らかな表現型の異常を示さず、出生後も正常マウスとの違いが認められないことから、現在、この蛋白の重要性は、組織修復や癌といった疾患モデルを用いた研究で大きな展開をみせている。

当教室でも初期には顔面発生研究において、胎児期のマウスを用いた組織学的解析から口蓋形成における Tenascin C の役割を、口蓋裂を発症する TGF- β の II 型受容体のコンディショナルノックアウトマウスを用いて解析し、Tenascin C が軟口蓋形成に重要であることを報告した。この解析を行う中で、この蛋白が上皮・間葉の相互作用においてとても興味深いふるまいをすることがわかり、疾患モデルを用いた研究プロジェクトへとスイッチしてきた。

口蓋粘膜の創傷治癒モデルマウスを用いた解析や未分化な間葉細胞の 3 次元構築を試みる研究等を経て、現在は、臨床において歯の萌出障害に対応した生検組織を用いて Tenascin C の発現を調べている。その中で、Tenascin C がエナメル上皮腫の進展に深く関係していることも明らかとなってきた。

本シンポジウムにおいては、我々がこれまでに行ってきた Tenascin C を中心とする研究を紹介したい。

口腔マイクロバイオーームと全身の健康との関連に着目した口腔医学研究

医学系プラットフォーム

谷口奈央（口腔健康科学分野）

医学系プラットフォーム（PF）は、医学、歯学、看護学など多様な専門分野の研究者で構成され、基礎、臨床、疫学など広範な領域で研究が行われています。PF内では、各研究者が個別の研究に加えて共同研究も展開し、口腔医学研究を新たな視点から推進することを目指しています。

今回は、私が取り組んできた口腔マイクロバイオーーム解析を用いた研究についてご紹介します。口腔マイクロバイオーームのディスバイオーシス（菌叢の乱れ）は、歯科疾患の発症や進行に深く関わるだけでなく、全身の健康にも影響を及ぼすことが明らかになっています。例えば、歯周病原菌や歯周病による炎症性物質が血流を介して慢性炎症や自己免疫疾患に影響を与える可能性が示唆されています。また近年、口腔内と同一菌株の *Fusobacterium nucleatum* が大腸がん病巣から分離され、疾患の発症や悪化に関与する可能性も指摘されており、胃酸バリアを超えて口腔内細菌が全身に拡散する可能性が示唆されています。このような背景から、消化管の入口である舌のマイクロバイオーームが全身の健康維持に重要な役割を担うのではないかと考えています。実際に、舌のマイクロバイオーームはさまざまな疾患や生活習慣に影響を受けることが報告されています。喫煙習慣が舌マイクロバイオーームに与える影響を調べるため、健康な成人の喫煙者と非喫煙者の舌苔細菌叢を比較した結果、喫煙者ではディスバイオーシスに関連する菌が多く見られました。

マイクロバイオーームの正常化と免疫機能の調整が期待される手法として、プロバイオティクスがあります。私たちはこれまでに、歯周病や口臭、高齢者の口腔健康維持において、乳酸菌 *Lactobacillus salivarius* WB21 株の継続摂取が有効であることを確認しました。プロバイオティクスは生きた菌を取り入れて徐々に作用するため、殺菌成分を含む従来の口腔ケア製品とは異なります。インプラント周囲組織の健康維持を目的として、炎症への抵抗力向上を目指しプロバイオティクスを使用し、局所的にはインプラント体に銀イオンコーティングを施すことで持続的な殺菌効果を期待するという、相反するアプローチを組み合わせる戦略を考えました。ランダム化比較試験では、乳酸菌摂取がインプラント周囲の炎症スコアを抑制することが確認され、またインプラントの銀イオン処理により、インプラント周囲炎に関与するとされる細菌の増殖が抑制されました。今後は、これらの相乗効果をさらに検証していく予定です。

最後に PF 内での共同研究の一環としての耳鼻咽喉科との研究についてもご紹介します。これまで、同一個体の上咽頭、鼻腔、口腔の微生物環境を比較した研究はなく、また鼻うがい各部位のマイクロバイオーームに与える影響も未解明でした。そこで、耳鼻咽喉科と協力し、無症状から軽度の鼻炎症状を持つ健康な成人を対象に、1 か月間の鼻うがい鼻炎症状および各部位の微生物環境に与える影響を調査しました。非常に興味深い知見が得られましたので、ご紹介します。