



藤原 千春 先生

略歴

2005年 大阪大学歯学部 卒業
2005年 大阪大学大学院 歯学研究科 入学
2009年 大阪大学大学院 歯学研究科 修了
2009年 大阪大学・専修歯科医 歯学部附属病院
2010年 米国国立衛生研究所 (NIH) 研究員 (Visiting fellow)
2015年 大阪大学・特任助教 歯学部附属病院
2017年 大阪大学・特任助教 大学院歯学研究科
(口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学・歯周病診断制御学分野)

CD40分子が誘導するダイナミックな生体機能

—全身における免疫機能制御から歯周組織における局所の炎症反応・骨代謝制御まで—

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学
藤原 千春

CD40分子は、TNF受容体スーパーファミリーの一つで、主にB細胞や樹状細胞、マクロファージなどの抗原提示細胞上に発現しており、獲得免疫反応において中心的役割を担う分子である。CD40発現細胞は、そのリガンドであるCD40 ligand (CD40L) を発現する活性化T細胞と結合することで、CD40-CD40L相互作用を介した細胞間クロストークを誘導し、免疫グロブリンのクラススイッチ、免疫寛容、胚中心の形成などの様々な免疫応答を惹起する。

近年、CD40は免疫細胞以外の細胞においても、ユビキタスに発現していることが明らかとなり、免疫反応以外にも多彩な機能を誘導することが示唆されている。歯周組織においても、歯根膜細胞や骨芽細胞、破骨細胞において、CD40の発現が認められ、組織の炎症や骨のホメオスタシスに重要な役割を担うことが推測される。

歯周炎病態においては、病巣局所に活性化リンパ球の浸潤が認められることから、CD40L陽性T細胞とCD40陽性歯根膜細胞が相互作用することで、局所の炎症が制御されている可能性が想定される。そこで、マウス歯根膜細胞を用いてCD40-CD40L相互作用が歯根膜細胞に及ぼす影響について検討したところ、歯根膜細胞のCD40分子はCD40Lに反応して、NF- κ Bシグナルを誘導し、同細胞からのIL-6やTNF- α といった炎症性サイトカインの放出を促進することで、歯周組織の炎症の増悪をきたすことが明らかとなった。さらに興味深いことに、歯周組織再生剤として用いられる塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) は、歯根膜細胞のCD40発現を抑制することが明らかとなり、FGF-2は、歯根膜細胞におけるCD40誘導性炎症反応を抑制することで、歯周組織における炎症反応を抑制する可能性が示された。

一方、CD40は骨芽細胞や破骨細胞上にも発現しており、骨代謝への関与も示唆される。CD40欠損マウスは野生型マウスと比較して大腿骨端の骨梁構造に異常が生じることから、CD40は免疫系と骨の相互作用を結びつける重要な因子であると推察できる。歯槽骨破壊を制御するCD40陽性細胞を標的とした歯周炎治療創薬の基盤研究として、現在、骨免疫関連細胞特異的CD40コンディショナルノックアウトマウスを作成し、*in vivo*において、骨のリモデリングを担うCD40発現細胞の同定を進めている。

本シンポジウムでは、我々がこれまでに得たCD40が誘導する免疫学的機能についての基礎的成果を紹介するとともに、CD40-CD40L相互作用の歯根膜や骨組織における機能に関する最新の研究結果を提示することで、多彩なCD40分子の機能についての理解を深め、CD40-CD40L相互作用を標的とした新たな歯周病診断法、治療法の開発の可能性につき議論させていただきたい。



前川 知樹 先生

略歴

- 2006年 新潟大学歯学部卒業
- 2007年 新潟大学医歯学総合病院研修医修了
- 2011年 新潟大学大学院歯周診断・再建学分野 博士課程修了
- 2012年 University of Pennsylvania (米国) ポスドク研究員
- 2013年 日本学術振興会 海外特別研究員
University of Pennsylvania (米国) リサーチフェロー
- 2015年 新潟大学医歯学総合研究科
高度口腔機能教育研究センター特任助教 (同上兼任)
- 2015年 同上 助教
- 2016年～ 同上 研究准教授

内因性 Del-1 分子による炎症性骨吸収の制御メカニズム解析とサルへの応用研究

新潟大学医歯学総合研究科 高度口腔機能教育研究センター
前川 知樹

歯周炎は局所における細菌のバランスの破綻により、宿主の細菌に対する過度な免疫応答や組織の重度な破壊、破骨細胞の分化と活性化による骨吸収が引き起こされる。その際に、とくに大きな役割をもつのが好中球である。私たちはこれまでに、好中球の過度な遊走を阻止する機能をもつ Del-1 (Developmental endothelial locus-1) に焦点をあて、歯周炎の病態解析をおこなってきた。Del-1 は、血管壁を構成する血管内皮細胞が主に産生し、恒常的に中枢神経系の炎症の発生と好中球の過度な遊走を阻止している。これまでの研究結果から、Del-1 が歯周炎を抑制することが明らかとなったが、好中球遊走阻止だけでは説明しきれない部分が存在していた。そこで Del-1 の骨吸収に対する影響を検索したところ、新規に Del-1 による炎症性骨吸収制御メカニズムが明らかとなった。具体的には、Del-1 がヒトおよびマウスの破骨細胞で発現しており、破骨細胞の分化と骨吸収機能の両者を制御していることが示された。骨吸収制御メカニズムとして、Del-1 の構成ドメイン依存的な構造的要素も明らかになった。

次に、Del-1 が歯周炎組織において産生が抑制されていることに着目した。すると、歯周炎組織において多量に産生されている IL-17 が、転写因子 C/EBP β を介して Del-1 の産生を制御していることを見出した。さらに、抗炎症性代謝産物であるレゾルビンを投与したところ、Del-1 の産生経路を解放し炎症抑制効果を発揮すること、すなわち、レゾルビンの炎症部位への投与が Del-1 を介した歯周炎の炎症の寛解に効果的であることが明らかになった。

Del-1 の炎症と骨吸収の両者の抑制機能を裏付けるために、トランスレーショナルリサーチ (基礎と臨床の橋渡し研究) として、サルを使用した研究をおこなった。サルを用いた研究は、これまでに米国内で細菌制御を目的とした新しい薬剤効果の検証の際におこなった経験があった。しかしながら、実験的に惹起した歯周炎モデルではなく、ヒトの歯周炎と同様の自然発症型歯周炎をもつサルを実験対象としたため、フィリピンにある大規模サル自然繁殖施設にて研究をおこなった。ヒトの壮年期にあたるサルの自然発症型の歯周炎は、ヒトの歯周炎と同様の細菌叢を持ち、中には自然脱落している歯も存在している。Del-1 や新しい補体拮抗薬による歯周病原細菌をターゲットとした治療法の可能性についても紹介したい。

炎症抑制と破骨細胞の分化・活性制御機能をもつユニークなタンパク質である Del-1 は、加齢に伴い全身での減少も認められる。つまり、Del-1 を投与するのではなく、安心・安全な方法で生体内に自律的に誘導することができれば、生体恒常性の維持が可能になる。

本講演では、Del-1 の生体における機能を中心に、将来の歯周病研究に繋がる細菌と生体防御の両者からの戦略を示し、歯周病学研究の展望について考察したい。



田口 洋一郎 先生

略歴

- 2002年 大阪歯科大学 卒業
- 2006年 大阪歯科大学大学院歯学研究科歯周病学専攻 修了
博士（歯学）の学位を受領
- 2006年 大阪歯科大学歯周病学講座 助手
- 2010年 日本歯周病学会 認定 歯周病専門医
- 2011年 日本歯科保存学会 認定 保存治療専門医
- 2012年 大阪歯科大学歯周病学講座 講師
- 2014年 大阪歯科大学歯周病学講座 准教授
- 2016年 日本歯科保存学会 指導医

高血糖状態が再生治療やインプラント埋入手術における 硬組織形成に及ぼす影響

大阪歯科大学 歯周病学講座
田口 洋一郎

WHOの報告では、成人の糖尿病患者数が2014年までに4億2200万人に達し、2025年までには7億人以上に増えると予測され、成人の11人に1人が糖尿病に罹患し、さらに46.5%が糖尿病の診断を得ていないと考えられている。その状況で、歯科分野において歯周組織再生療法やインプラント補綴といった硬組織形成を伴う小手術の需要は高まる一方である。糖尿病患者はリスクが高いからといって避けるのではなく、適切な血糖値コントロールを行うことで成功率を上昇させるエビデンスを構築することが必要と考えている。

我々は歯根膜幹細胞や骨髄間葉系細胞などの未分化間葉系細胞を、空腹時血糖値を参考に各種グルコース濃度で従来の硬組織分化誘導を行うことで、炎症と類似した状態が惹起され硬組織形成に影響を及ぼし、その状態は細菌感染の際に起きる炎症とは異なることを報告している。

さらに我々はナノメートルレベルの表面性状を施したチタン金属平板上で、高グルコース状態がインプラントフィクスチャー表面の硬組織形成に及ぼす影響および形成された硬組織の骨質について評価している。アルカリフォスファターゼ活性は、グルコース濃度が上昇するにつれて低下したのに対し、オステオカルシン産生量やカルシウム析出量は一旦急激に減少するが、その後は増加する傾向を示した。高グルコース状態ではオステオカルシン産生量が高くなっていることで骨量は増えるが、アルカリフォスファターゼ活性の低下に伴いリン析出量が低下することで、結果としてCa/P比が高くなりバランスが崩れることで脆弱な骨形成が起きると示唆している。以上のことから、グルコース濃度をコントロールしていたとしても、インプラント表面に形成する骨量・骨質が大きく変化している可能性があり、初期固定への影響が懸念され、さらなるインプラント周囲炎への予防的処置が必要であると考えている。

インプラント埋入では、表面性状の改良によって親水性を高くすることで細胞接着を高め硬組織分化誘導も高めることが分かっている。しかし、表面性状の物理的制御による細胞接着の向上は同時に細菌の接着も向上させ、インプラント周囲炎惹起の危険性を高める。そこで、加熱処理を行うことで厚い酸化膜を形成し、細胞接着は減少させるが、硬組織分化を促進する表面性状を利用し、高グルコース環境下での影響について検討したのでご紹介したいと考えている。

我々は、日々の臨床において糖尿病患者もしくはその予備群の患者と常に接し診療に従事している。今まで歯周病と糖尿病の双方向的な発症機序について国内とりわけ日本歯周病学会において多くの先生方が研究され現在に至っている。今後将来、増える一方の糖尿病患者に対し少しでも治療の選択肢が提示できるような基礎研究について発表できればと考えている。



福田 隆男 先生

略歴

- 2000年 九州大学歯学部卒業
- 2004年 九州大学大学院歯学府修了 博士（歯学）
- 2004年 九州大学病院歯周病科 研修医
- 2006年 九州大学病院歯周病科 研修登録医
- 2008年 九州大学病院歯周病科 医員
- 2009年 九州大学大学院歯学研究院歯周病学分野 特任助教
- 2010年 日本歯周病学会 専門医
- 2014年 九州大学大学院歯学研究院歯周病学分野 助教
- 2016年 ペンシルバニア大学（米国）客員研究員

プロテオーム解析と歯肉幹細胞エクソソームを応用した 新規歯周病治療の分子基盤構築

九州大学大学院 歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯周病学分野
福田 隆男

近年、歯周病治療の現場において、歯周組織再生を目的とした再生治療が精力的に行われるようになり一定の成果を上げている。国内では主に幼若豚の歯胚から抽出されたエナメル基質タンパク（EMD）が高頻度に応用されている。一方、近年注目されている幹細胞を中心とした細胞移植による再生治療は、めざましい成果をあげつつも、必要設備・コストなどの面から、歯科臨床現場への普及には多くのハードルが課せられているのが現状である。いずれの治療においても、統一の見解に基づいた分子基盤の確立は、安全性と治療効果の向上に必須であると考えられる。現在、我々は新規アメリロジェニン会合分子Grp78および歯肉幹細胞由来エクソソームを標的とした新規歯周病治療の開発に向けた基礎研究を行っている。

アメリロジェニンはEMDの90%以上を占める主要成分であり、EMDによる歯周組織再生の中心的な分子である。我々はその分子基盤を解明するためにプロテオーム解析を行い、新規アメリロジェニン会合分子Grp78の同定に初めて成功し、その会合が骨芽細胞の増殖および歯根膜幹細胞の遊走に関与することを報告した。Grp78は熱ショック蛋白の一種であり、熱ショック蛋白誘導剤は、臨床で抗胃潰瘍薬として頻用されているため、アメリロジェニンとの併用により既存薬再応用（ドラッグ・リポジショニング）としての可能性を検討している。

一方、細胞治療の代表的なツールである間葉系幹細胞（MSC）は、組織再生に必須である多分化能のみならず、抗炎症作用、免疫制御機能なども有することから細胞治療における優れたソースとして注目を集めている。その一方で最近ではMSCによる治療効果について、多分化能のみならず分泌能に注目が集まっている。すなわち、MSCは障害を受けた組織の再生をサポートすることによって治療効果を発揮している可能性が示唆されている。その中心的役割を担う細胞分泌物として、エクソソームが注目されている。現在、我々はペンシルバニア大学Songtao Shi教授らのグループと歯肉幹細胞由来エクソソームの歯周病治療応用にむけた共同研究を並行して行っている。歯肉幹細胞は、他組織のMSCに比べ採取が容易であるうえにエクソソームの分泌量が有意に高いという特性を持つ。MSCの特性の一つに、疾患に由来する刺激に応じて、治療効果の増大に貢献することが報告されている。我々は炎症性サイトカインであるTNF- α 刺激した歯肉幹細胞由来エクソソームが、有意に修復型（M2）マクロファージを誘導することを確認しており、最小限のMSCから歯周組織再生シグナルをより効果的に誘導する、安全性の高い次世代の幹細胞治療への応用の可能性を検証している。

これらの知見に関する研究結果を踏まえて、歯周組織再生の分子生物学的メカニズムの構築に関して考察したい。



森川 暁 先生

略歴

- 2003年 明海大学歯学部歯学科 卒業
- 2003年 慶應義塾大学医学部研修医（歯科・口腔外科）
- 2005年 慶應義塾大学大学院医学研究科博士課程（外科系専攻歯科・口腔外科）
入学
- 2009年 慶應義塾大学大学院医学研究科博士課程（外科系専攻歯科・口腔外科）
修了
- 2009年 博士（医学）慶應義塾大学
- 2009年 独立行政法人国立病院機構栃木病院（現 栃木医療センター）歯科口腔外科
- 2010年 慶應義塾大学医学部歯科・口腔外科学教室 助教
- 2013年 日本歯周病学会 認定医
- 2015年 日本再生医療学会 再生医療認定医
- 2016年 日本歯周病学会 専門医

高純度間葉系幹細胞の研究展開および臨床応用への可能性

慶應義塾大学医学部歯科・口腔外科学教室
森川 暁

われわれの研究グループではこれまでにフローサイトメーターによる細胞分離技術を活用した組織幹細胞に関する研究を精力的に行ってきた。再生医療の分野で注目されている骨髄間葉系幹細胞は、これまで有効な抗原マーカーが知られていなかったために幹細胞本来の性質や、生体内での動態を詳細に解析することが不可能であった。このような問題点を解決するために、マウスおよびヒト骨髄細胞において間葉系幹細胞特異的マーカーを同定し、生体から直接分離・精製する技術を確立した。この分離技術によって、これまでの間葉系幹細胞の精製方法ではその解析が不可能であった生体内における局在や、生理学的役割の一端を明らかにした。さらに創傷治癒機構におけるはたらき、そして発生学的起源についてもその一部を直接可視化・証明することに成功した。現在はiPS細胞研究も組み合わせ、新規の歯周組織再生療法の実現に向けて研究中である。また近年の組織幹細胞研究は再生医療への応用のみならず、難治性疾患の病態解明とその治療法を模索する上でも非常に重要な解析手段となっている。このような組織幹細胞研究背景のもと、本学生理学教室と眼科学教室との共同研究により、この特異的表面マーカーを用いた間葉系幹細胞分離・移植モデルにおいて、全身臓器の線維化による機能障害を引き起こす慢性移植片対宿主病の新たな病態理論とその予防法の可能性について言及できる結果が得られた。われわれがこれまで行ってきたこのマウス・ヒト高純度間葉系幹細胞研究を軸として、今後の研究展開、そして新たな組織再生療法の可能性について述べたい。



加治屋 幹人 先生

略歴

- 2005年 広島大学歯学部卒業
- 2009年 広島大学大学院歯周病態学研究室 博士課程終了 歯学博士取得
- 2009年 The Forsyth Institute (米国) リサーチフェロー
- 2012年 広島大学病院口腔維持修復歯科歯周診療科 医員
広島大学病院口腔維持修復歯科歯周診療科 助教
- 2013年 日本歯周病学会 認定医
- 2017年 日本再生医療学会 再生医療認定医

骨髄間葉系幹細胞集塊 C-MSC によって拓く未来の歯周病細胞治療法

広島大学病院 口腔維持修復歯科歯周診療科
加治屋 幹人

細胞治療法とは、既存の組織の細胞そのもの、あるいは細胞機能が喪失した不可逆性の組織破壊疾患に対して、生体外から適切な細胞を供給するものである。すなわち、大規模な歯槽骨破壊を示す侵襲性歯周炎や重度慢性歯周炎が細胞治療法の適応症であるといえる。特に、間葉系幹細胞 (MSCs) は多分化能・自己増殖能を有すること、比較的容易かつ安全に分離できること、その利用に倫理面での問題がないことから、歯周組織再生療法に最も適した細胞として考えられている。実際に、患者自身からそのMSCsを分離し、生体外で増殖および機能調節を行い、人工足場材料と混和して移植体を作成し、欠損部に移植する方法が盛んに検討されている。しかし、このMSCsの分離・移植体作成の行程には解決すべき以下の課題が残っている。

①コストの問題

MSCsの分離から移植体作成までの行程は長期に及ぶため、培養に関わる費用や、安全性・有効性の検査費用が増大する。

②作成される移植体の均一性・同一性の担保の問題

移植直前にその都度移植体を作成すると、移植体に含まれる細胞数や細胞機能を毎回均一にできる保障はなく、そのための評価実施も難しい。その結果、予定した細胞増殖が得られず、移植術当日に予定した移植体が作成できない可能性もある。

③十分なMSCsの確保が難しい患者のケース

患者が高齢もしくは血液系・間質系有病者であった場合は、十分な機能・数のMSCsが確保出来ない。

一方、近年、私達の研究室ではMSCsと細胞自身が産生する細胞外基質 (ECM) を利用して、間葉系幹細胞集塊 Clumps of MSC/ECM complex (C-MSC) を樹立した。C-MSCは直径1mmほどの立体的細胞集塊であり、これを複数個組み合わせることで、複雑で大規模な形態の欠損組織に対して適合可能であり、また生体外で調節した細胞機能を維持した状態で移植が出来ることを報告してきた。

将来の細胞治療法は、前述した三点の課題を解決するために、細胞バンクからMSCsを組織再生のための細胞製剤として供給する他家移植療法の確立に向けて展開していくと予想される。この観点にもとづき、C-MSCと従来の技術を組み合わせることによって、1). C-MSCはその組織再生能を損なうことなく凍結保存出来ること (課題①, ②の解決)、2). 免疫制御能を向上させることで他家移植への応用可能性があること (課題①, ③の解決)を見出した。さらに、現在のMSCsに代わる細胞源として、3). iPS細胞から誘導されたMSCsを、安全かつ確実にC-MSC化させて細胞治療に応用する方法を模索している (課題③の解決)。本発表では、これらのC-MSCの基礎データを報告するとともに、C-MSCの歯周組織再生療法のための細胞製剤としての応用可能性について考察させていただく。