

2017年6月19日—2017年10月16日
Dental Research Meeting 紹介論文リスト

1. J Dent Res 96:945-952, 2017
PF4/PPBP/CXCL5 遺伝子クラスターが歯周病と関連する
2. J Dent Res 96:571-577, 2017
歯周炎における分泌型 FRP5 と Wnt5a の発現差異と役割
3. Endocrinology 158: 1715-17, 2017
雌のマウスの老化に伴う骨喪失における骨芽細胞 Gi シグナルの役割
4. J Dent Res 96:822-831, 2017
骨基質の質、インプラントオッセオインテグレーションと Wnt シグナルの関連性
5. J Dent Res 96:626-632, 2017
歯内治療中の迅速な細菌検出法の確立
6. J Dent Res 96: 578-585, 2017
BMP1 および TLL1 は、歯周組織の恒常性を維持するために必要である
7. Nat Commun 8:264, 2017
インプラント周囲の病態を、舌を用いて診断する
8. Stem Cell Res Ther 6:167, 2015
動物血清を含まない2次元および3次元培養における間葉系間質細胞の骨形成細胞への分化
9. J Dent Res doi: 10.1177/0022034517730026, 2017 [Epub ahead of print]
ヒト iPSCs 由来の機能性象牙芽細胞様細胞分化
10. PLoS One 10:e0140942, 2015.
インターロイキン-1 受容体アンタゴニストは、マトリックスメタロプロテイナーゼ-13 発現調節において1つの特徴的な新規機能を有する

1. 2017年6月19日(月)荒 敏昭抄読

The PF4/PPBP/CXCL5 Gene Cluster Is Associated with Periodontitis.

Shusterman A, Munz M, Richter G, Jepsen S, Lieb W, Krone B, Hoffman P, Laudes M, Wellmann J, Berger K, Kocher T, Offenbacher S, Divaris K, Franke A, Schreiber S, Dommisch H, Weiss E, Schaefer AS, Houry-Haddad Y, Iraqi FA

J Dent Res 96:945-952, 2017

PF4/PPBP/CXCL5 遺伝子クラスターが歯周病と関連する

本研究では、最初に細菌感染に感受性および耐性を示すマウスを使用し、歯肉組織の RNA シークエンシングと QTL (量的形質遺伝子座) のデータを組み合わせて解析を行った。得られた4種類の遺伝子をターゲットとして、次にヒト歯周病の患者対照研究のサンプルで全

ゲノム関連解析を行った。その結果、PF4/PBPP/CXCL5 領域に存在する SNPs (rs1595009)が慢性歯周炎と関連することが示された。

今回の報告から、マウスによる QTL マッピングおよび RNA シークエンシングとヒトの患者対照研究を組み合わせることで、歯周病のリスクとなる遺伝子変異を同定することができることが示された。

2. 2017 年 6 月 26 日(月) 小出雅則抄読

Differential Expression and Roles of Secreted Frizzled-Related Protein 5 and the Wntless Homolog Wnt5a in Periodontitis.

Maekawa T, Kulwattanaporn P, Hosur K, Domon H, Oda M, Terao Y, Maeda T, Hajishengallis G

J Dent Res 96:571-577, 2017

歯周炎における分泌型 FRP5 と Wnt5a の発現差異と役割

Wntless / integrase-1 (Wnt) ファミリーのリガンドおよびそれらの機能的アンタゴニストである分泌型のfrizzled関連タンパク質 (sFRP) は、胚発生、免疫および炎症を調節する。Wnt5aおよびsFRP5は典型的なリガンド/アンタゴニストであり、ヒト歯周炎においてWnt5aの発現が報告されている。著者らは、ヒト歯周炎におけるWnt5aおよびsFRP5の発現の相互関係を調査し、歯周炎モデルマウスにsFRP5を投与して、歯槽骨吸収や歯肉の炎症関連の遺伝子発現を評価した。(結果) 健常なヒト歯肉上皮においてsFRP5の発現が優性であり、歯周炎患者ではWnt5aが優位に高発現する。培養ヒト歯肉上皮細胞でも同様の結果が示された。絹糸結紮誘発性の歯周炎モデルマウスに対するsFRP5の局所投与は、炎症性サイトカインの発現および骨組織における破骨細胞数を減少させて、歯槽骨の喪失を防御した。以上の結果から、歯周炎のバイオマーカーとしてWnt5a/sFRP5比は臨床研究への応用が期待される。歯周炎においてWnt5aは治療標的であり、sFRP5は治療薬として有望であることが示された。

3. 2017 年 7 月 3 日(月) 尾崎 友輝抄読

Role of Osteoblast Gi Signaling in age-Related Bone Loss in Female Mice.

Millard SM, Wang L, Wattanachanya L, O'Carroll D, Fields AJ, Pang J, Kazakia G, Lotz JC, Nissenson RA.

Endocrinology 158: 1715-17, 2017

雌のマウスの老化に伴う骨喪失における骨芽細胞 Gi シグナルの役割

加齢に伴う骨喪失は、年配者において骨折の重要な危険因子である。それは主に、骨形成の減少による骨リモデリングのアンバランスから生じる。我々は以前に、骨芽細胞において、内在性 G タンパク質結合レセプター (GPCR) に由来する Gi シグナルが、マウスの成長期において骨形成を抑制することを示した。本研究では、骨芽細胞の Gi シグナルが、老化したマ

ウスにおいて骨形成を抑制することにより、骨喪失が進行するという仮説を検証するために、我々は縦断研究を開始した。我々のアプローチは、骨量がピークになった後に、百日咳毒素 (PTX) の触媒サブユニットの発現を誘導することにより、成熟骨芽細胞において Gi シグナルを阻害するという方法であった。雌のコントロールマウスでは加齢に伴い海綿骨の骨喪失が進行していたが、対照的に、雌の Col1(2.3)+/PTX+マウスは、加齢に伴い骨量が増加した。骨量の増加は、大腿骨の骨幹中央の曲げ強さの増加や、海綿骨および内皮質の表面で増加した骨形成と相関していた。対照的に、雄の Col1(2.3)+/PTX+マウスは、加齢に伴う骨喪失から保護されなかった。我々の結果は、雌のマウスが老化する間、Gi シグナルが海綿骨の骨内膜面において骨形成を抑制することを示した。適切に Gi に結合した GPCRs を阻害することは、少なくとも老化した女性の長管骨においては、新しい骨粗鬆症の治療法の開発のためのアプローチとなるであろう。

4. 2017 年 7 月 10 日(月) 川原一郎抄読

Relationships among Bone Quality, Implant Osseointegration, and Wnt Signaling.

Li J, Yin X, Huang L, Mouraret S, Brunski JB, Cordova L, Salmon B, Helms JA.

J Dent Res 96:822-831, 2017

骨基質の質、インプラントオッセオインテグレーションと Wnt シグナルの関連性

骨基質は増殖活性の低い層板状のタイプ I と増殖が活発な海面状のタイプ III が知られている。骨基質性状の解明はインプラントの安定性の獲得に寄与する。今回の研究では、マウスの顎骨インプラント周囲に形成された骨は、タイプ III が多く、骨芽細胞には高いミトコンドリア活性と Wnt シグナル系による増殖が認められた。オッセオインテグレーションの骨代謝にも Wnt の知見が加えられた。

5. 2017 年 8 月 28 日(月) 定岡 直

Rapid Bacterial Detection during Endodontic Treatment.

Herzog DB, Hosny NA, Niazi SA, Koller G, Cook RJ, Foschi F, Watson TF, Mannocci F, Festy F.

J Dent Res 96:626-632, 2017

歯内治療中の迅速な細菌検出法の確立

根管(Root canal, RC)治療(RCT)に続いて RC 内に残存する細菌は、持続的な感染をもたらす、治療の失敗と再治療の必要性をもたらす可能性がある。現在、RC 内の細菌の存在を臨床的に検出するための標準化された方法はない。ペーパーポイントサンプリングおよび蛍光染色の使用は、処置後の残存細菌を検出することができる迅速な方法であることが示された。Calcein acetoxymethyl (AM) は、歯内バイオフィルム内の生存細菌を検出するのに適した色素であり、バイオフィルムモデルにおけるコロニー形成ユニットの計数よりもすぐれた感度を有することが証明された。さらに、初期の RCT を用いた臨床試

験において、53本の感染菌が採取され、コロニー形成単位計数と比較して、生存細胞の検出が増加した。この方法がより低い細胞数を検出する感度を持つことが示された。蛍光染色と顕微分光法に基づくスペクトル分析と組み合わせることにより、Calcein AM インキュベーションの5分後にRCからの生菌の検出を可能にした。RCT中にこの技術を適用することにより、細菌の検出および追加の治療によって持続感染を減少させる可能性がある。さらに、この技術は、臨床環境における抗菌研究および殺菌制御に適用することができる。

6. 2017年9月4日(月) 石原 裕一抄読

BMP1 and TLL1 are required for maintaining periodontal homeostasis.

Wang J, Massoudi D, Ren Y, Muir AM, Harris SE, Greenspan DS, Feng JQ.

J Dent Res 96: 578-585, 2017

BMP1 および TLL1 は、歯周組織の恒常性を維持するために必要である

骨形成不全症(OI)の疾患原因遺伝子の1つである、BMP-1とTLL1遺伝子欠損マウスは成熟骨細胞の減少に伴うOI様表現型を呈することが報告されている。今回、歯周組織に着目し形態学的・免疫組織学的に観察したところ、野生型に比べ、50%以上の有意な骨吸収8週から17週において、歯根膜腔の拡大、線維の不整な走行、細胞性セメント質の減少、進行性の歯槽骨吸収、破骨細胞の増加が観察されたことから、BMP-1とTLL1は歯周組織の恒常性に重要であることが明らかとなった。また、5週から8週に抗菌療法を行うことにより、顕著に歯周組織破壊が改善されたことから、遺伝子欠損マウスの歯周組織恒常性欠如には感染が関与していることが示唆された。

7. 2017年9月11日(月) 高橋直之抄読

Diagnosing peri-implant disease using the tongue as a 24/7 detector.

Ritzer J, Lühmann T, Rode C, Pein-Hackelbusch M, Immohr I, Schedler U, Thiele T, Stübinger S, Rechenberg BV, Waser-Althaus J, Schlottig F, Merli M, Dawe H, Karpíšek M, Wyrwa R, Schnabelrauch M, Meinel L.

Nat Commun 8:264, 2017

インプラント周囲の病態を、舌を用いて診断する

もし臨床的無症候性疾患の人々を簡便にスクリーニングすることができれば、我々は健康な人々の数を確かに押し上げることができるはずである。感覚チューインガムは、「誰でも、どこでも、いつでも」働ける24/7 (24 hours/7 days a week) 検知器として舌を標的にする。感覚チューインガムは、苦味物質と微粒子との間にプロテアーゼ切断可能なリンカーをもつペプチドセンサーを含む。インプラント周囲の病気でアップレギュレートされる口腔内のマトリックスメタロプロテイナーゼは、ガムを咀嚼しながらプロテアーゼ切断可能リンカーを切断する。さらに、唾液のアミノペプチダーゼが残ったアミノ酸残基を切断することにより苦味は増強され、舌によって検出できる苦味を生じる。ペプチドセンサーは、臨床的に無症候性のボランティアと比

較して、インプラント周囲炎を有する患者から採取した唾液を識別することに成功した。市販の唾液中プロテアーゼに基づく試験より優れた結果が実証された。「誰でも、どこでも、いつでも」口腔炎症の診断が可能となった。将来このプラットフォーム技術を他の疾患に拡張するならば、この診断法はヒトの健康に大きな影響を与えるスクリーニングツールとして機能すると考えられる。なお今回、歯周病患者の唾液は識別することができなかったことも述べられており、改良の余地があるように思われた。

8. 2017年9月25日 李 憲起抄読

Osteogenic differentiation of mesenchymal stromal cells in two-dimensional and three-dimensional cultures without animal serum.

Castrén E, Sillat T, Oja S, Noro A, Laitinen A, Konttinen YT, Lehenkari P, Hukkanen M, Korhonen M.

Stem Cell Res Ther 6:167, 2015

動物血清を含まない2次元および3次元培養における間葉系間質細胞の骨形成細胞への分化

自家骨髄間葉系間質細胞(MSCs)を用いた組織修復または置換する臨床組織工学において、免疫と感染などのリスクを減少するため、ヒトの血漿と血小板溶解物(platelet lysate and plasma, PLP)が利用されている。しかし、このPLPはヒトMSCsの増殖と分化に与える影響は不明である。そこで2次元(プレート上)培養および3次元(collagen scaffold内)培養モデルを用いて、ヒトPLPの添加によるヒトMSCsの増殖と骨形成細胞への分化を、FCS(ウシ胎児血清)添加群と比較した。なお、骨芽細胞への分化誘導には、dexamethasone, ascorbic acid および β -glycerophosphate を添加した培養系を用いた。ヒトMSCsの増殖において、PLP添加群はFCS添加群より低い傾向であったが、MSCsの骨形成細胞への分化は、両群間では差は認められなかった。すなわち、ヒトPLPの使用は、MSCsの骨形成細胞への分化を抑制することなく、異種感染リスクも減少できた。以上の結果より、ヒトPLPを使用したヒトMSCの3次元培養は、骨組織への分化・臨床移植に対して有用であることが示された。

9. 2017年10月2日 堀部寛治 抄読

Functional Odontoblastic-Like Cells Derived from Human iPSCs.

Xie H, Dubey N, Shim W, Ramachandra CJA, Min KS, Cao T, Rosa V.

J Dent Res doi: 10.1177/0022034517730026 [Epub ahead of print], 2017

ヒトiPSCs由来の機能性象牙芽細胞様細胞分化

induced pluripotent stem cells (iPSC)は、自己複製能とすべてのタイプの細胞への分化する能力を有する。今回の論文では、象牙芽細胞への分化能を持つ歯髄幹細胞(DPSC)をiPSCへと変化させることができるかの検証を行った。DPSCを電気穿孔したのち、reprogramming 因子 OCT-4, SOX2, KLF4, LIN28、および L-MYC を遺伝子導入し、iPSC

へと変化させた。iPSC は、in vitro で reprogramming factor gene の過剰発現およびアルカリホスファターゼ、OCT4、および TRA-1-60 タンパクの高発現を示し、in vivo では外胚葉・中胚葉・内胚葉すべての組織の形成能を有することを確認した。iPSC を播種した scaffold+dentin ディスクを、免疫不全マウスの皮下に移植した。移植から 28 日後、iPSC は象牙細管様の構造をもった象牙質様の硬組織と、歯髄様組織の形成をおこなった。次に、長期間継代後の iPSC の分化能を培養系で評価した。継代 4 回および 14 回の iPSC および DPSC を、象牙芽細胞分化誘導培地、または硬組織誘導能を持つ bio-active cement 抽出物存在下で 28 日間培養した。継代を 14 回経ているにもかかわらず、iPSCs は象牙芽細胞分化のマーカを発現し、硬組織形成能は低下しなかった。これらのデータは、ヒト iPSC が象牙芽細胞分化のソースとなり、歯髄研究、生体活性を評価するための活用できることを示している。

10. 2017 年 10 月 16 日 岩本弥恵 抄読

Interleukin-1 Receptor Antagonist Has a Novel Function in the Regulation of Matrix Metalloproteinase-13 Expression.

Goto H, Ishihara Y, Kikuchi T, Izawa A, Ozeki N, Okabe E, Kamiya Y, Ozawa Y, Mizutani H, Yamamoto G, Mogi M, Nakata K, Maeda H, Noguchi T, Mitani A.

PLoS One 10:e0140942, 2015

インターロイキン-1 受容体アンタゴニストは、マトリックスメタロプロテイナーゼ-13 発現調節において 1 つの特徴的な新規機能を有する

インターロイキン-1 受容体アンタゴニスト(IL-1Ra)は、IL-1 受容体に結合するが細胞内シグナル伝達を誘導しない IL-1 ファミリーメンバーである。本研究者は、IL-1Ra が細胞外マトリックスまたは細胞外接着分子の調節において 1 つの特徴的な新機能を有するかどうかを調べた。PCR アレイ分析において、IL-1Ra siRNA をトランスフェクト(導入)した Ca9-22 ヒト口腔扁平上皮癌細胞のマトリックスメタロプロテイナーゼ 13(MMP-13)mRNA 発現は、対照よりも約 5 倍の増加を示した。実際に、IL-1Ra siRNA を導入した Ca9-22 細胞では、IL-1Ra の発現が抑制されていた。また、MMP-13 の mRNA とタンパク質の発現量ならびに MMP-13 活性は、コントロールに比べ有意に高かった。IL-1Ra siRNA を導入した Ca9-22 細胞に recombinant human IL-1Ra (rhIL-1Ra)を添加すると MMP-13 mRNA の発現はコントロールレベルまで抑制された。このことは、IL-1Ra が MMP-13 誘導に特異的な効果を有することを示唆する。IL-1 は MMP-13 の発現を誘導することが知られている。そこで、IL-1Ra siRNA 導入が IL-1 を誘導するか解析した。IL-1Ra siRNA の導入は IL-1 β の発現には影響せず、IL-1 α の発現を一過性に抑制した。すなわち、IL-1Ra siRNA 導入は IL-1 を誘導することはなかった。さらに、IL-1Ra siRNA 導入した細胞の MMP-13 mRNA 発現は、抗 IL-1 α または抗 IL-1 β 抗体処理により、影響されなかった。これらの結果は、Ca9-22 細胞では、IL-1 は IL-1Ra siRNA による MMP-13 の誘導に影響を及ぼさないことを示唆する。歯周組織におけ

る MMP-13 の組織病理学的調査により、IL-1Ra ノックアウト (KO) マウスの接合上皮細胞に特異的な局在が示された。さらに、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa 菌) を感染させた実験的歯周炎モデルでは、根尖側接合上皮細胞に沿った MMP-13 のより強い発現が観察された。MMP-13 によって分解されるラミニン-5 は、野生型マウスの内部基底層に見出されたが、IL-1Ra KO マウスの内部基底層には、明らかな局在を示さなかった。Aa 菌に感染した IL-1Ra KO マウスの内部基底層において、ラミニン-5 の局在はほとんど消失していた。以上より、IL-1Ra の欠損は、MMP-13 を強力に誘導し、その結果ラミニン-5 が分解されるという機序が示された。以上より、IL-1Ra は、IL-1 シグナル伝達カスケードの干渉なしに、MMP-13 発現を抑制するという新規な機能を有すると結論された。