

口腔生理学講座

山村 健介

口腔生理学講座では、生きる上でもっとも重要な機能のひとつである「食べる」機能について、特にその神経機構に着目し運動機能、感覚機能両面について研究を行っている。最近我々の研究室で行われている実験のうち、特に動物を用いている実験で得られた知見の一部と現在進行中の研究を紹介したい。

感覚機能についての研究としては食べ物・飲み物の美味しさの重要な要因である「のど越し」の感覚とは何かを解明するための実験を行っている。麻酔したラットの舌咽神経咽頭枝および上喉頭神経から水、ビール、酒といった飲み物や脂肪成分刺激に対する求心性インパルス応答を記録し、のど越しにおけるこれらの感覚情報の役割を生理学的に考察している(真貝、日本味と匂学会誌など)。

運動機能面では特に咀嚼・嚥下運動やそれに関わる筋の活動がどのような仕組みで調節されているのかについて、覚醒動物を用いた慢性実験系と麻酔動物を用いた急性実験系を併用して調べている。覚醒動物を用いた慢性実験系では、小型動物の下顎運動軌跡記録装置、筋電図用慢性埋め込み電極、脳における神経細胞活動記録および脳の限局した部位に対する微小刺激を行うための微小電極およびマイクロマニピュレータを開発し、無麻酔無拘束のウサギを用いて実験を行うことにより、従来麻酔動物では観察できなかった知見を得ている。最近では、自然咀嚼時には下顎のみならず頭部に咀嚼周期に同期した運動が見られること、またそれに伴い頸部の筋にも咀嚼時特有の活動が認められ、この筋活動は口腔内に与えられた感覚入力によって変化すること(Igarashi et al.,

Brain Res.)や口腔内感覚神経刺激により誘発される開口反射が、咀嚼の位相のみならず咀嚼する食物の性状に応じて異なった変調を受けること(Yamamura et al., Brain Res.)、睡眠時に閉口筋の運動神経の興奮性を調べ、レム睡眠時には閉口筋運動神経の興奮性は一般に低下するものの、時折急速眼球運動に伴った興奮性の著しい増大が認められること(Inoue et al., Neurosci. Res.)などが明らかにされている。また、従来記録してきた咀嚼筋に加え、舌運動をつかさどる筋からも慢性記録を行い、咀嚼時の下顎と舌の協調についても研究を行っている。嚥下誘発の神経機構については無麻酔無拘束のウサギあるいは麻酔したラットを用い実験を行っている。最近、嚥下反射を誘発する感覚入力を伝える末梢神経について再検討を行ったところ、従来報告されてきた上喉頭神経に加え、舌咽神経咽頭枝への電気刺激が嚥下誘発に効果的であることが見いだされた(Kitagawa et al., In Neurobiology of Mastication - from Molecular to Systems Approach)。

これまで我々が咀嚼・嚥下運動の調節機構に関して行ってきた研究をもとに現在行っている実験のひとつに大脳皮質などの上位脳が咀嚼・嚥下運動にどのように関わっているのかを調べる実験がある。咀嚼や嚥下は歩行と同様に、上位中枢を除去した動物においても末梢への感覚刺激を与えることなどで誘発することが可能であること、すなわちその中枢(CPG: central pattern generator)が脳幹に存在することから、半自動運動として随意運動とは区別されている。近年の咀嚼や嚥下に関する研究の多くが、運動のリズム形成や筋活動の調節におけるCPGや反射の役割を強調してい

る。すなわち、咀嚼や嚥下においても大脳皮質の役割は歩行で考えられている大脳皮質の役割と同様に、すでに脳幹レベルで決まっている複数の基本リズムや筋の発火タイミングを選択する、あるいは統合するにすぎないとする考え方である。しかし、歩行の場合と異なり、咀嚼や嚥下では、例えば摂取された食塊の性状や温度が咀嚼の進行に伴い連続的に変化することからもわかるように歩行の場合とくらべて運動中の状況変化が頻繁に生じる。運動そのもののパターンも食物の前歯での取り込みから臼歯での臼磨・粉碎そして食塊の形成・嚥下へと連続的に変化する。このような運動の複雑性を考慮すると、咀嚼や嚥下の遂行には大脳皮質を含めたより高度な統合機能が重要であることが予想される。現に大脳皮質咀嚼野あるいは顔面運動野のニューロンの中には咀嚼時あるいは嚥下時に特異的に活動したり、その活動様式を変化させるものが多数見つかっている (Yamamura et al. Abs. Soc. Neurosci.)。より直接的な証拠としては実験動物あるいはヒトにおいて大脳皮質を刺激すると様々なパターンの咀嚼様運動あるいは嚥下を誘発することが知られており、大脳皮質咀嚼野や顔面運動野、そして第一次顔面感覚野の破壊は咀嚼や嚥下の遂行を障害することが報告されている。また、先に述べたように我々はこれまで口腔からの感覚情報によって誘発される反射のひとつである開口反射が咀嚼中に変調を受けることを明らかにしたが、四肢運動に関する研究では大脳皮質感覚野からの下行性抑制が末梢からの感覚情報により誘発される反射の感度調節にも関わ

っているとの報告がある。このような大脳皮質の咀嚼・嚥下運動の調節における重要性を示す知見がある一方、大脳皮質咀嚼野の破壊後、動物は一時的に咀嚼機能を完全に失うが、時間経過とともにある程度その機能を回復すると報告している論文もあり、大脳皮質が失われても生体の基本的な機能である摂食・嚥下機能は他の脳部位である程度代償されると考えられる。臨床的にも脳梗塞などによる脳機能脱落を原因とする摂食・嚥下障害患者の中にリハビリテーションによってかなりの部分その機能を回復する者がいることが知られている。こうした背景を基に咀嚼・嚥下運動において大脳皮質がどのような役割を果たしているのかに注目して研究を開始した。具体的には、無麻酔動物の大脳皮質咀嚼関連領域に脳冷却を用いた可逆的脳機能ブロックを行い、冷却ブロック中に摂食時の下顎運動パターンや顔面・咀嚼・嚥下筋活動あるいは口腔感覚刺激によって誘発される反射にどのような変化があらわれるのかを調べる。その後同じ脳部位を不可逆的に破壊し、下顎運動パターンをはじめとした上記パラメータの変化を経時的に調べる。以上の実験より大脳皮質を欠くことによって正常な咀嚼・嚥下運動にどのような障害があらわれ、時間経過とともに回復してくるのはどの部分で永久に失われる機能は何なのかを解明する。

このような研究は今後種々の脳疾患により大脳皮質の口腔顔面関連領域に傷害を受けた患者の咀嚼・嚥下機能を考える上で基礎となりうると考えている。

歯科薬理学講座

川島博行

はじめに

歯学部ニュースの原稿依頼について、という E-mail を一月ほど前に受け取った。講座における最先端の研究について紹介してほしいということ以外には、字数制限なし、という条件がついている

だけなので、ここでは主として学部学生を対象に講座のテーマの現状と展望について解説してみたい。

本講座に私が赴任したのは4年前の平成8年4月1日であった。現在進行中のテーマは全て、そ

の時点以降においてゼロから出発したものであり、その意味では現歯学部5年生の諸君と同じ位置にあると考えてよい。従って他の多くの講座とは異なり、すべてにおいてようやく立ち上がって歩き始めた状況にあることを理解していただきたい。とはいえ、ここまで来ることができたのも、私と同時に助手として赴任し、昨年4月から解剖学第一講座助手に転出した池亀美華先生、平成9年1月に助手として加わった石橋 宰先生、昨年4月から助手として加わった吉沢達也先生、この三名の先生の力と努力によるものであり、また、その指導下に奮闘努力してきた大学院生諸君の力に依存するものであることを付記しておきたい。また、小澤英浩前学部長をはじめ各講座の先生方、事務方の皆様のご支援を心から深謝し、今後も変わらぬご支援とご鞭撻をお願い申し上げる次第である。

1) メカニカルストレスの骨形成作用に関する研究

現在骨粗鬆症の予防あるいは治療薬として認められているのはエストロゲン製剤やビスフォスフォネートなどの骨吸収抑制薬である。しかし、骨粗鬆症の真の治療薬となるためには、一度減少した骨を再形成し骨量を増加させる作用すなわち骨形成促進作用を備えていなければならない。全身的に投与して骨形成のみを特異的に刺激する物質あるいは方法は現時点では存在しないが、いくつかの可能性はある。その代表がメカニカルストレスである。我々は、常に1Gという重力場に曝

されており、この条件下では内分泌学的に正常であって通常の生活が可能である限り骨形成は保証される。ところが生理的にいかに健康な人であっても、宇宙空間のような微小重力に曝されると、骨形成は著明に抑制される。地上においても、病気や重大な障害によって寝たきり状態を余儀なくされたり、ギブスによる固定のために不動化状態に陥ると、同様に骨形成は抑制される。不動化状態では、重力の作用が適正に発現しないからである。従来、骨組織にメカニカルストレスを負荷すると、骨形成が活性化されることが知られているが、メカニカルストレスの受容機構と骨形成刺激への情報の変換がどのような機構で起こるかについては全くわからないといってよい。我々が、この機構を明らかにすることができれば、その応用により、無重力下でも寝たきり状態でも、さらには老化による骨代謝低下状態であっても、骨形成を刺激することが出来るようになるに違いない。メカニカルストレスの骨形成作用に関する研究は、このような背景のもとにスタートすることになった。

メカニカルストレスと骨形成に関する研究は、従来、培養細胞や動物個体を用いる研究がほとんどで、骨芽細胞がどのような細胞から分化してくるか、どのような骨組織特異的遺伝子が活性化されるか、など不明であった。我々が、この研究をはじめた直後には、下表に示す遺伝子群が変動することが明らかにされていたが、表から明らかのように、骨に特異的な遺伝子は皆無である。

表 メカニカルストレスに応答して発現量が変化する遺伝子／分子^{#1)}

細胞の種類	遺伝子／分子
骨芽細胞／骨細胞	c-fos, PGE ₂ , PGI ₂ , COX ₂ , NO synthase, egr-1, cAMP, IP ₃ , PKC, PLA ₂ , PLCγ, SA channel ^{#2)} , GLAST ^{#3)} , IGF-I, TGFβ, PDGF, Vinculin
破骨細胞／骨髄細胞	IGF-I, IGF-II, M-CSF, SA channel

注1) 平成9年末における文献データ

注2) stretch-activated channel

注3) glutamate/aspartate transporter

我々は、マウス頭蓋冠縫合部に培養下で張力刺激を負荷するモデルを選んだ。その理由として、

本実験系では48時間以内に石灰化も含めた骨形成を観察することができる、骨芽細胞様細胞を用い

る研究に比べて間葉系の多くの細胞も含んでおり骨芽細胞の前駆細胞を決めるのに有利であること、個体レベルの研究に比べて全身性に作用する物質の関与を除くことができるため解析が容易であること、顕微鏡による観察が容易であるため、細胞の形態変化と遺伝子発現の変化とを対応させて細胞分化を観察できること、などが挙げられる。この実験系を用いて我々はこれまでに以下のことを明らかにした。

- ① 張力負荷開始3hr 後には間葉系細胞に BMP-4 遺伝子が発現し、ついで骨芽細胞特異的転写因子である Cbfa1 遺伝子が発現して骨芽細胞となり、さらに osteopontin や osteocalcin などの分泌をとまって類骨 (osteoid) の形成とその石灰化がおこるという一連のプロセスを観察した。これは生体内で見られる骨形成過程と同一のものと考えることができる。
- ② BMP-4 はオートクリン・パラクリン的に作用して (すなわち、分泌した細胞自身および近傍の間葉系細胞に働いて) 骨芽細胞の分化に重要な役割を果たしている可能性がある。
- ③ 張力刺激により発現レベルが変動する遺伝子を検索した結果、骨芽細胞分化に特異的にかかわると考えられる既知遺伝子および未知遺伝子を同定した。これらの遺伝子の機能について検討中である。
- ④ 張力刺激により変動する遺伝子をさらに網羅的に検索するため、張力刺激負荷組織および非負荷組織から RNA を抽出し、GeneChip を用いるマイクロアレイにより検討している。
- ⑤ BMP-4 遺伝子や②あるいは③で得られる遺伝子が骨形成に必須であるか否かを決定するためには、張力負荷組織において当該遺伝子の発現を阻止して骨芽細胞の分化や骨形成が抑制されること、また、張力非負荷組織に当該遺伝子を過剰発現させて骨芽細胞の分化や骨形成が刺激されることを確認しなければならない。そのために、アデノウイルスベクターにつないだ当該遺伝子のアンチセンスあるいはセンスヌクレオチドを利用するが、本実験系の準備もほぼ整った。
- ⑥ BMP-4 遺伝子の転写調節領域には shear

stress (ずり応力) に応答する部位 (SSRE) が存在する。この領域に結合する因子はまだ同定されていないが、張力刺激により誘導される骨形成にこの部位がかかわっている可能性もある。⑤の結果次第では、この因子の同定が重要になるかも知れない。

上記の検討の結果、キーとなる遺伝子が特定されたら、その発現制御様式を検討し、人為的 (薬物を用いて) に発現制御する (骨組織特異的に) 方法を検討しなければならない。このことが可能になってはじめて医療としての応用が期待できる。遺伝子発現の調節機構が明らかになれば、化合物を用いて遺伝子発現を制御することは、aspirin の例でもわかるように十分に可能なことであり、医薬の開発の歴史を想起すれば、メカニカルストレスをバイパスして骨形成を誘導することも実現可能と考えられる。生物が水棲から陸棲に変化した時、有効重力は 1/6G から 1 G に変化した。この激変に対して我々の遠い祖先は長い時間をかけて適応してきた。今、人類は無重力の世界へ進出しようとしているが、時間の余裕を持たない我々は人為的な手段で適応状態をつくる以外に方法がない。大いなるチャレンジというべきであるが、少なくとも骨形成に関しては可能性があると考えている。

2) エストロジェンの骨作用に関する研究

エストロジェンの骨作用は、主として破骨細胞の分化および活性を抑制することにより発現すると考えられている。この作用は、tamoxifen や raloxifene のような SERM (selective estrogen receptor modifier) と呼ばれる物質によっても刺激される (アゴニストとしての作用) が、これらの物質は乳腺など他の標的臓器ではアンタゴニストとして作用することもあるので、その細胞特異的な作用機序が注目されている。また、内分泌かく乱物質 (いわゆる環境ホルモン) としてエストロジェン様作用物質による地球規模の環境汚染が深刻化しているが、これらの物質も SERM 同様細胞特異的な作用を発揮する可能性がある。一方、エストロジェンには弱いながらも骨形成作用のあることも示唆されており、この作用と SERM の作用とのかかわりも注目される。さらに、最近、

エストロゲン受容体 (ER) にも大別して二種類 (ER α と ER β) あることが最近明らかにされた。我々のグループも含めていくつかの研究グループが、SERM およびエストロゲン様作用物質の作用は ER サブタイプおよび細胞の種類により異なることを明らかにしている。我々は、骨芽細胞におけるエストロゲンの作用を解析し、ER β を介する作用は、骨芽細胞において他の組織より強く現れることを示した。このことは、転写制御にかかわるプロモーター領域に ERE (estrogen response element) が存在するか否かにかかわらず認められる現象である。また、最近エストロゲンが RANK ligand によって誘導される破骨細胞分化をストローマ細胞に依存することなく (すなわち、エストロゲンは破骨細胞前駆細胞の ER を介して作用する) 抑制することが報告された。この作用は、c-jun を抑制することによるとされている。一方、我々は、SERM と呼ばれる化合物群の中に c-fos のプロモーター活性を ER β を介して骨芽細胞特異的に刺激するものを見出しており、上記の報告とも併せて興味深い。細胞特異的な作用が現れる原因として、受容体ーリガンド複合体が結合する転写補助因子あるいは共役因子の意義も示唆されている。おそらく、ER のサブタイプ、転写補助因子/共役因子、プロモーター領域の構造、ならびに、プロモーター領域に結合する各種因子、の存在比や組み合わせの相違によりエストロゲン作用の細胞特異性が制御されているのであろう。このような機構を明らかにするために、我々は主として in vitro における転写活性を指標に検討しているが、それぞれの ER サブタイプの存在比を変えて過剰発現した動物による in vivo の検討も行うべく準備を進めている。

本テーマの最終目的も、骨芽細胞特異的なエストロゲン作用機構を明らかにし、それを医療に応用する道を開くことにある。

3) 歯根膜細胞の樹立と歯根膜の機能解析

歯根膜は咀嚼や発声にもなって激しく変動するメカニカルストレスに抗して自身の形態や機能を維持するのにとどまらず、歯周組織の維持に必須であると考えられている。歯周組織とくに歯槽骨やセメント質などが保持されるのは、歯根膜細

胞が状況に応じて骨芽細胞にもセメント芽細胞にも分化する能力を持つ骨原性細胞である故と信じられている。しかしながら、このような考えを厳密な意味で支持するデータは存在しない。歯根膜細胞を純粹に多量に得ることが困難であるばかりでなく、株細胞も存在しないからである。このような歯根膜の機能を明らかにし医療に応用するためには、以下のことが達成されなければならないと考えている。

- ① 歯根膜細胞を樹立する
- ② 歯根膜細胞の特異的マーカーを同定する
- ③ 樹立された株細胞を用いて歯根膜細胞の分化能や生体内運命を明らかにする
- ④ 歯根膜細胞の機能を in vitro で明らかにする
- ⑤ 歯根膜細胞特異的遺伝子欠損マウスを作成し in vivo における機能を明らかにする
- ⑥ 歯の移植実験を行い、歯根膜の機能を確認する
- ⑦ 歯根膜細胞の機能を担う遺伝子の発現調節機構を明らかにする
- ⑧ 移植実験に応用する

現在までに、SV40 large T-antigen を発現したトランスジェニックマウス由来の不死化した歯根膜細胞を数株樹立することに我々は成功した。これらの歯根膜細胞は遺伝子発現に関して多様性があり、in situ hybridization 法で調べた生体内歯根膜細胞にも認められる多様性に対応しているように思われる。現在、これらの細胞株の性質を調べるとともに、その遺伝子発現の違いを骨芽細胞とも比較するため、1)と同様にマイクロアレイを用いて検討中である。これにより歯根膜特異的なマーカーの同定が可能になる。同定された遺伝子は、1)において述べたと同様に、細胞レベルおよび動物個体レベルで欠損あるいは過剰発現することによりその機能を調べて行く。また、細胞株に色素その他により標識をつけ個体における生体内運命を調べることも重要な課題である。その結果により歯の移植に使用するのに最適な歯根膜細胞のタイプが決まるからである。本テーマの今後の検討課題として②以下が残っていることになる。

さて、歯根膜細胞が骨原性であるとする、石

灰化する二つの組織（歯槽骨およびセメント質）には含まれ、かつ、激しいメカニカルストレスの変動に曝されている歯根膜が、石灰化しないための機構が存在するはずであり、その制御にかかわる遺伝子が存在することになる。この遺伝子を同定することは、石灰化の制御機構を明らかにする上でもきわめて重要であり、本テーマの目標のひとつである。このように本テーマは1)のテーマとも密接にかかわるものであることを強調しておきたい。

4) Connexin を介する細胞間情報伝達系に関する研究

メカニカルストレスを受容する細胞として、骨細胞 (osteocyte) が有力視されている。骨細胞同士は細い突起によってつながれ、gap junction を通じて情報の交換を行っていると考えられている。Connexin 43は gap junction を構成する重要な因子であり、PTH その他のカルシウム調節ホルモンやエストロゲンなどによる制御機構が興味深い。この点について検討するため connexin 43のプロモーター部分をクローニングし、エストロゲンにより制御され得ることを明らかにした。そして2)の場合と同様に、エストロゲンによる転写制御はER サブタイプによって異なること、骨芽細胞特異的転写調節が起こっている可能性があること、などが示された。一方、chick embryo に connexin 43の antisense origonucleotides を作用させて connexin 43の機能を抑制すると、肢芽の発生に異常が起こることが報告されており、gap junction を介する情報伝達が増殖・分化に重要な役割を果たしていることがわかる。今後、これらのことも考慮に入れてさらに検討を進めて行く。

5) 学生諸君へのメッセージ

以上述べたように、本講座の研究テーマはいずれも lag phase を経てようやく立ち上がった段階にあり、これから大きく展開するいわゆる増殖期 (growth phase) を迎える。骨の形成／再生、歯周組織の再生に直接かかわるこれらのテーマは、臨床的にもきわめて重要であることは改めて説明するまでもあるまい。高齢者の QOL を維持する上でもっとも大切なのは、咀嚼・嚥下・発声など

の機能と行動の自由が確保されること、すなわち、歯周組織と骨量が維持されることに他ならない。歯周病をはじめとする歯周疾患と骨粗鬆症は超高齢社会においては最大の問題であるといっても過言ではない。従って本研究の成果は社会経済的にもインパクトが大きい。

医療にかかわる行為あるいは職業として、基礎と臨床とを比較して考えてみよう。基礎の講座で行われる研究は、通常すぐに医療行為に結びつくわけではないが、現時点では治療不可能な疾患を将来治療可能にする方法を見出す、あるいは、そのような方法を見出すために必要な発見をする、ことを目指している。これに対して臨床における診療という行為は直接患者と向き合いその疾患の治療を行うことである。言い換えれば、不特定多数の患者の利益を考えるか、特定の比較的少数の患者の利益を考えるか、という違いになる。前者の場合は、リスクは大きい社会的なメリットも大きいものに対して、後者の場合は、確実性は高いが社会的な評価はせまい範囲にとどまる傾向にある、ということになる。どちらを採るかは好みの問題である。歯学部に来てみて意外かつ残念に思ったのは、異分野参入や基礎研究を志向する学生が極端に少ないということである。真偽はともかく、歯科医師や医師の過剰が議論される今こそ、より広範な可能性を求めて羽ばたく時ではないだろうか？

上に紹介した本講座のテーマは、いずれもサイエンスとしてきわめて質が高く、野心的かつ応用性の高い研究であるということが出来る。従ってこれにかかわることは、世界の最先端の研究グループと勝負することを意味する。これを勝ち抜くためには、多くの研究者による切磋琢磨が必要である。研究を進展させるのは、頭の良さではなく、絶え間ない努力を持続することであり、謙虚な態度でデータに向き合うことであり、真実を知る喜びを持続することに他ならない。このことは傍から見ていてわかるものではなく、実際に現場に飛び込んで良い指導者とともに経験することにより理解できるタイプのことである。諸君自身の人生（若い諸君もいずれ高齢者になる！）ならびに21世紀を明るくものにするためにも是非チャレンジ

していただきたい。

おわりに

以上当講座における研究のトピックスについて概説した。私に残された時間は6年半に過ぎないことを考えると、これらのテーマの結論は見果てぬ夢ということになるかも知れないが、夢の実現に少しでも近づくためにさらに努力を続けるつも

りである。ひとりでも多くの学生諸君が我々とともにチャレンジし、その中から、これらのテーマの推進者となり次代へのかけはしとなって夢を実現する研究者が育ってくれることを切に願っている。学生（大学院生）以外の方々の共同研究参加についてももちろん大歓迎である。

口腔生化学講座

伊藤 将 広
織田 公 光

遺伝子異常と骨カルシウム代謝異常

はじめに

近年、分子細胞生物学、遺伝子工学の分野における進歩はめざましく、臨床医学の領域にも大きな力を発揮し、多くの疾患の病態がこれまでに明らかとなってきた。現在、世界中が注目しているアメリカを中心としたプロジェクトにより、ヒトの遺伝子配列の全てがまさに解き明かされようとしている。遺伝子配列の全容がわかると、遺伝子の異常と病気との関わりも益々明らかになってくるものと思われる。

生体は様々な種類の細胞から成り立っており、それらは互いに情報交換を行いつつ個体として合目的に機能している。これらの細胞で発現される遺伝子に異常が起こった場合、実際には何重かの安全弁が存在し、容易に疾患として成立せずに済むことが多い。しかし、遺伝子異常によって合成されるタンパクの構造に変化が起こると、そのタンパクの活性が低下し、正常から少し離れた、いわゆる「体質の違い」となって現れてくる。これがもう少し、タンパクの構造を大きく変えてしまうような遺伝子の異常、さらには遺伝子そのもの自体が働かないような異常が起こると、明らかな疾患となって現れ、程度によっては重篤な病態や胎生期での発育異常、あるいは死に至るなどという結果をもたらす。

歯科領域においても、様々な遺伝子異常と疾患

の結びつきが指摘されている。その代表的なものの一つに、癌遺伝子と呼ばれる遺伝子群があるが、この遺伝子の増殖や、遺伝子の異常（変異）により作られるタンパクの構造変化などが、癌を引き起こす一因となる。また、歯を支えているのは骨という組織であるが、骨に異常が起これば当然歯にも影響を与える。高齢になり、入れ歯を入れることになっても骨が吸収された状態だと、入れ歯がなかなか安定しなかったり、人工の歯としての役割を担うインプラント治療などにも影響をきたす。このように歯と骨は密接な関わり合いがあるが、骨や歯の異常を引き起こす原因遺伝子も、ここ最近の分子細胞生物学の進歩により、数多く同定されてきている。例えば、細胞の増殖因子として知られる FGF のレセプター（受容体）の異常、タンパクであるコラーゲン遺伝子の異常、ホルモンとして知られる副甲状腺ホルモンのレセプター遺伝子の異常、酵素であるアルカリホスファターゼやカテプシンK遺伝子の異常、転写因子としては MSX2、SOX9 や Cbfa 1 遺伝子の異常などは、すべて骨疾患を引き起こし、枚挙にいとまがない。

このように、遺伝子異常によって、生体を構成する細胞でどのような変化が生じているのかを研究することは、生体で引き起こされる病気を解明する第一歩となる。

今回、歯科領域において密接な関わりを持つ骨や歯の疾患と遺伝子異常について、その中でも特に、骨以外にも歯や口腔領域にも異常をきたす鎖

骨頭蓋異形成症と、我々が現在解析を進めている低ホスファターゼ症の2つについて簡単に紹介する。

遺伝子異常と骨疾患

鎖骨頭蓋異形成症 (Cleidocranial dysplasia) は常染色体優性遺伝する骨系統疾患である。本症では主として膜性骨化で形成される鎖骨や頭頂骨、前頭骨などの形成不全や泉門・頭蓋の縫合不全などがみられる。また口腔内においては口蓋裂や歯の萌出異常が高頻度でみられる。近年、四つの研究グループが骨を作る細胞である骨芽細胞の分化を決定するのに重要な Cbfa 1 (core binding factor alfa 1) という転写因子の同定に成功し、Cell という国際雑誌に同時に報告された。大阪大学医学部の小守らの研究グループによると、この Cbfa 1 という遺伝子を全く働かせないようにしたマウス (ノックアウトマウス) を調べてみると、なんと一部の軟骨は作られていたが、骨は全く作られていないことが確認された。そして、実は、ヒトの鎖骨頭蓋異形成症の患者では、この Cbfa 1 という遺伝子に異常 (変異) があることが、ハーバード大学の Olsen らの研究グループによりわかった。つまり、Cbfa 1 が鎖骨頭蓋異形成症の原因遺伝子であることが明らかになったのである。

低ホスファターゼ症 (Hypophosphatasia) は、ペンシルバニア大学の Weiss らによって、アルカリホスファターゼ遺伝子の欠損により引き起こされる疾患であることが初めて報告された。この病気は、骨や歯の低石灰化、骨格異常、くる病様変化、血清アルカリホスファターゼ値の低下、乳歯の早期脱落、永久歯の脱落、成人での偽骨折などを特徴とし、通常、常染色体劣性遺伝であるが、最新の研究では常染色体優性遺伝もありそうである。我々は、この低ホスファターゼ症の原因を細胞レベルで現在解析している。アルカリホスファターゼという酵素は、骨や肝臓、腎臓、小腸、胎盤などに広く分布しているが、特に骨などの石灰化に関係した酵素であることが知られている。しかし、どのような機構で石灰化に関与しているかなど未だ不明な点も多い。正常人におけるアルカリホスファターゼの場合は、この遺伝子の指令に

よりアルカリホスファターゼというタンパクが細胞の中のリボゾームで作られ、小胞体からゴルジ体、そして細胞の表面の膜へという経路で運ばれる。しかし、低ホスファターゼ症を呈する患者の場合、このアルカリホスファターゼ遺伝子に異常 (変異) があることが報告されている。こうした患者の場合、アルカリホスファターゼという遺伝子は正常の人と同じように指令を送っている (発現している) ことが多いが、作られるタンパクが正常に働いていないというのである。しかしその理由については全く解明されていなかった。そこで我々は、低ホスファターゼ症を呈した患者の異常な遺伝子 (変異遺伝子) と同じものを作製し、細胞に働かせて (導入させて) みた。すると症状が致命的な患者の遺伝子と同じものを導入した細胞においては、確かにアルカリホスファターゼ遺伝子はタンパクを作るように指令を送っているのだが、全く細胞の表面の膜まで運ばれていないことが我々の研究から明らかとなった。それでは、タンパクが作られていないのかどうかを調べてみたところ、確かにタンパクは作られていたものの、細胞の中に溜まっている状態であった。実際にどこでタンパクが膜へと運ばれる作業がストップしてしまっているのか? アルカリホスファターゼというタンパクは、細胞の膜に運ばれた時にその場所にとどまってしまうように、輸送途中の小胞体で GPI アンカーというくさびのようなものが付加される。また、ゴルジ体を通過するとある特定の酵素に抵抗性を持つようになるのだが、これらを生化学的に調べたところ、GPI アンカーは付加されているものの、その特定の酵素に抵抗性になっていないことがわかった。このことから、小胞体までは順調に運ばれたが、そこで何らかのトラブルが発生し輸送が中断してしまっていることになる。詳細に検索したところ、作られた欠陥のタンパク同士が多数くっついてしまった状態になっていることが判明した。我々はこの原因として、異常な遺伝子の指令により作られたタンパクの構造が変化してしまい、それが引き金となってタンパク同士の結合を誘発し、凝集して輸送がストップしてしまっただと考えている。

さらに比較的軽症の患者の遺伝子で同じように

調べたところ、ちょうど正常な人と重症な人の中間の結果を示した。これらのことから、アルカリホスファターゼは、細胞の表面の膜に運ばれて初めて酵素として働き、骨や歯の形成に関与出来ることが伺える。そしてごく最近、常染色体優性遺伝により発症した重篤な患者について検討中である。興味深いことに、重篤な低ホスファターゼ症の場合、致死性であるため、常染色体優性遺伝を示した患者の両親のどちらかも致死性であることが予想される。ところが、子供を出産したということは、この患者の両親はどちらも正常か軽症であると思われる。つまり、遺伝子に起こる異常には生殖細胞に起こり次世代に受け継がれる germ line mutation と、生体内の細胞が分化した後に発生する somatic mutation とがある。前者は、はるか祖先の誰かの生殖細胞に起こり、それが代々受け継がれ民族の中に浸透していった変異 (mutation) と、そうした遺伝的背景が存在せずに発症し、おそらく両親のどちらかの生殖細胞に新たに

生じた mutation を受け継いでしまった場合 (de novo mutation) とが臨床的に認められるが、まさにこのケースは、後者であると考えられる。

おわりに

今回、遺伝子異常と歯や骨の疾患について、その中の一つである低ホスファターゼ症を中心に我々の研究成果の一部とともに、ごく簡単に紹介した。血中のアルカリホスファターゼ値の測定は、実は一般的に臨床検査中で行われている。比較的軽症な低ホスファターゼ症患者の場合は、自覚症状が少ないため発見には至ってはいなくとも、潜在的にはいると思われる。低ホスファターゼ症をはじめ、今後一層、歯科に関連した遺伝子疾患が明らかとなってくると思われるが、原因究明とともに治療薬あるいは治療法の開発が期待される。臨床分野との連帯はもちろんのこと、細胞レベルでの解析と生体ヘフィードバックさせた解析の両方の側面からの研究がますます必要であろう。