

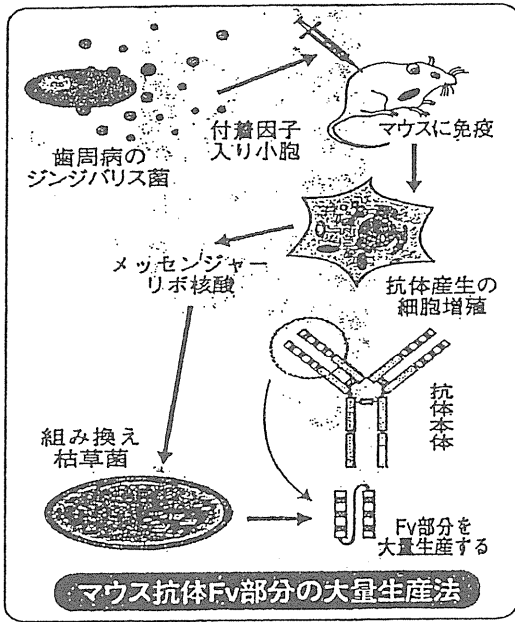
研究成果物

5) 新聞記事

対歯周病菌 免疫療法

安全な抗体大量生産

日大が確立



日本大学松戸歯学部の子孫子直光教授は歯周病歯槽の菌に対する免疫療法に使える安全な抗体の大量生産法を確立した。菌の歯付着を導く定着因子に対するマウス抗体のうち、免疫反応を引き起こさず病原性中和だけをするFv部分を利用する。抗体生産に適さない大腸菌ではなく、枯草菌の遺伝子組み換えで、菌体外に分泌させる工夫をした。虫歯菌でも同様に成功しており、抗体投与による治療のほか、組み換え植物で抗体を野菜類から摂取・予防する可能性もありそうだ。

マウス抗体 病原性中和部分を利用

これは日大の我孫子教授、球凝集因子などを持つ。その授、城座映明講師、柴田恭子こと、これを抗体で抑える講師らのグループの研究成果。歯周病はジンジバリス菌による細菌感染症で、歯付着を促す定着因子(赤血

球凝集因子など)を持つ。そのものに対してはヒト免疫による拒否反応が起きるので、リンパ球活性化を起こすFv部分ではなく、抗原に結合するFv部分を利用した。

抗体など硫黄同士の結合を持つたんぱく質は、大腸菌で生産すると凝集が起るため、溶解・再構成を経ると収率が極端に落ちてしまう。そのため今回は枯草菌を組み換え体利用。同じバシラス属の酵素の遺伝子部分を導入し、できた抗体を菌体外に分泌させ回収しやすくした。得られた抗体は、定着因子の機能を阻

害することを試験管内で明らかにした。

歯周病菌は歯科だけでなく、血液中に入ると心不全を起したり、糖尿病や肺炎など全身疾患のリスク要因になることが最近、明らかになりつつある。免疫療法による抗体は体内に移らず口の中でのみ働くため、安全性は高いとみられている。今回の成果は歯科の免疫療法の実用化を後押ししそうだ。

う蝕の原因となるプラーク(歯垢)は、歯肉の炎症などの歯周病を引き起こす主な原因でもあるが、そのプラークの形成を抑制することに成功すれば、う蝕・歯周病に画期的な予防方法が誕生することになる。バイオサイエンス技術を応用した歯周病予防や治療アプローチの戦略について研究を行っている安孫子宜光・日本大学松戸歯学部教授に、将来実用化が期待される歯周治療研究の最新線について聞いた。

日本大学松戸歯学部
生化学講座

安孫子 宜光教授



安孫子研究室が研究しているプラーク形成の抑制は「リプレイスメント療法」と呼ばれ、歯面に初期から付着する安全な口腔常在菌に新規の遺伝子組み換えを行い、プラーク形成を抑制する物質を産生させるといふもの。ここで標的とされるのは、う蝕の原因菌として有名なStreptococcus mutans菌。Smutansはグルコシルトランスフェラーゼ(GTF)という酵素を作り、砂糖から粘着性不溶性グルカンを合成してプラークの形成を促進する。

歯周病予防 バイオサイエンスで

94年に食品総合研究所の小林幹彦氏が、土壌細菌である*Bacillus circulans*がサイクロデキストラン合成酵素を持ち、そのサイクロデキストランが低濃度であっても*S. mutans*のGTF酵素を強力に阻害することを発見し、野田産業研究所で合成酵素遺伝子がクローン化された。そこに注目した安孫子研グループは、病原性のない安全な口腔内常在菌である*Streptococcus gordonii*にサイクロデキストラン合成酵素遺伝子の導入を試み、本酵素を菌体外に分泌することができる遺伝子組み換え株の作成に成功している。

安孫子氏は、「このリプレイスメント療法を歯科医師が歯面に定着させるリプレイスメント療法を行うことにより、持続的なプラーク形成の抑制が期待でき

プラーク形成を抑制 リプレイスメント療法

る」と説明する。また安孫子研の研究は、ほかに「受動免疫療法」があるが、これは歯周病原菌の定着を制御できる抗体療法というもの。歯周病の主要病原菌として知られる

遺伝子組み換えで安全な口腔常在菌に新規物質を産生

*Orphyromonas gingivalis*の赤血球凝集因子が歯周組織への定着因子として、また赤血球を破壊して、ヘモグロビンからヘム鉄を獲得する因子として働いている点に着目し、赤血球凝集活性を阻害する遺伝子組み換え抗体やヒト型抗体を作り出すことにより、受動免疫療法の開発に役立てようという研究を行っている。

「遺伝子組み換え応用には一般に抵抗感があり理解が乏しいため、実用化はまだ難しいかもしれませんが、ただ、歯周病が心不全、肺炎、糖尿病など全身疾患の重要なリスク因子であることが明らかになりつつある現在、こうした生命科学のなアプローチを応用した歯科医療体制の構築と実践は急務であると考えています」と安孫子氏は話している。

口腔疾患の原因遺伝子解明へ

口腔疾患は環境要因だけでなく遺伝要因によっても発現するとされる。この原因遺伝子を解明しようという研究が現在さまざまなところで行われているが、研究はどこまで進んでいるのだろうか。5月29、30日に新潟県で行われる第41回日本小児歯科学会大会で「口腔疾患の原因遺伝子解明への道」と題した宿題報告を行う前田隆秀・日本大学松戸歯学部小児歯科学教室教授に報告の内容を聞いた。

日本大学松戸歯学部
小児歯科学教室

前田 隆秀教授

「う蝕症や歯周疾患、不正咬合、歯の数や構造の異なるもの、環境要因の多寡はあつて、環境要因が大きく影響しています。これらの疾患や異常の原因遺伝子を明らかにすることができれば、将来診断や治療に応用でき、予防することも可能となります。」

世代をわたって発現する



疾患の感受性または異常な形質には、原因遺伝子が存在する。この遺伝子の解明

宿題報告

う蝕症、不正咬合、欠如歯など候補遺伝子研究進む

後者は異常が発現した場合、どの遺伝子が原因遺伝子であるかを探すもので、前田教授らはこの手法を用い、数年前から研究に取り組んでいるという。

対立遺伝子がホモ接合体である近交系マウスを用い、う蝕症、不正咬合、欠如歯、遺伝性エナメル質形成不全症について連鎖解析で原因遺伝子の解明を進めて

色体2番と8番に有意な連鎖が得られた。さらに、う蝕症の異なる両系統の遺伝子の発現量をマイクロアレイによって解析したところ、免疫担当遺伝子が候補遺伝子となつた。

児会 遺伝子となつた。
本学 また、不正咬合があるマウスは今まで発見されず、純粋な不正咬合の遺伝子解析はできなかった。が、骨格性反対咬合の特徴として下顎骨長が大きい点に着目。顎骨の大きなマウスと小さなマウスの交雑種から、マウス染色体11番のOx1が候補遺伝子と特定した。

「forward geneticsでは自由な交配ができ、しかも世代が短く子孫を多く得ることが可能です。そこでこの遺伝子の相同性が高くと、ゲノム解析が行われているマウスの中でも特に

「forward geneticsではこれまで明らかとなつた点は、う蝕症ではマウス間でう蝕感受性に違いがあることから、高感受性と低感受性系統の交雑種で連鎖解析をした結果、マウス染

欠如したマウスを発見。野生マウスとの交雑種からマウス染色体3番の狭い領域に有意な連鎖が認められた。そこで、その狭い領域だけを遺伝子組み換えしたマウスを作成して欠如歯の発現を検証した。次に、その領域にあって候補遺伝子となつたLef1での塩基配列を調べたところ、第4エキソン内に変異があったことからLef1を候補遺伝子であると特定した。

エナメル質形成不全症では同症のマウスを発見し、連鎖解析したところ、候補遺伝子がマウス第5番染色体にあるEnamelinやAmeloblastinの塩基配列を解析した結果、Enamelin遺伝子の第5エキソン内と同一プライミングドナーサイトに塩基配列の置換が認められることがわかった。

前田教授は「小児歯科学とは小児の成長発達を評価した後、予測を行い対応する歯科医療。原因遺伝子の解明にはまだ時間がかかりますが、小児歯科臨床に有益なものでさらに研究を進めたい」と語っている。

歯の再石灰化で 新評価方法開発

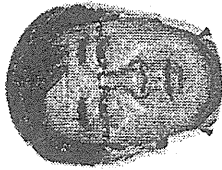
日大松戸歯とサンギ

歯科の分野においても産学協同の研究が活発化しているが、日本大学松戸歯学部は機能歯磨剤「アバガード」を販売するサンギ(本社東京都中央区佐久間町社長)と共同で、歯の再石灰化状態を調べる3つの新評価方法を構築。第81回IADR(国際歯科学研究学会)総会(フエーデン、イェテボリ)で発表した。

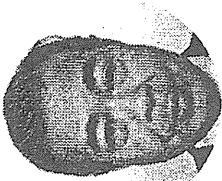
池原空司教授(保存修

復学講座)らの染色法ならびにSEM観察法で考察された評価方法は、従来のCMR法より簡便でスピーディーに再石灰化の評価を行えるもの。より正確な画像情報が得られることにより、歯のエナメル質が溶け出す初期う蝕内部で起こる変化などのメカニズム解明に役立つと期待される。

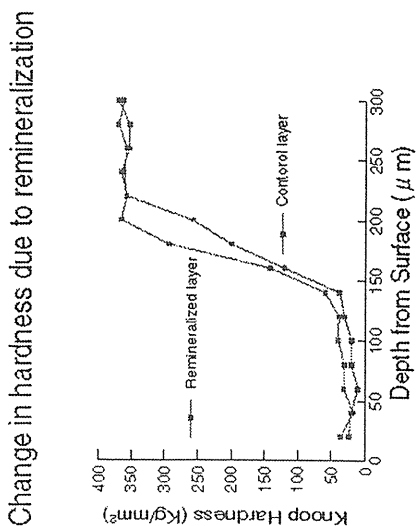
試料切片の染色法では、初期う蝕に染色を行うことで初期う蝕の部分



池見氏



根本氏



を明確に観察。またアルゴンエッチング前処理によるSEM観察法では、今まで試料作製に手間がかかっていたクミヤシイヤ(歯牙切削片で覆われていた層)をアルゴンエッチングで取り除くことにより、初期う蝕部位のエナメル質微細構造を観察できる。

一方、根本君也教授(歯科理工学講座)らの「微小硬度試験法は歯質のミネラル量と歯質強度の関係について微小硬度計を用いて評価を行い、規格化したもの。

初期う蝕のエナメル質の最表層から20 μmごとに強度を測定したところ、初期う蝕の部位で強度が低下することを確認し、初期う蝕内部の強度変化を捉えられることに成功。強度計1台から再石灰化率を見出す計算式を考案した。

いずれの研究も治療から予防へ移行する歯科医療の観点で貴重な研究といえる。サンギでは、これらの3つの再石灰化の新評価方法を、今後歯学会や他社メーカーへも情報開示していく予定。

問い合わせは ☎012

0-824-1101



再石灰化による
硬度の変化図