

増加傾向にあった。性別は男性が199人、女性が207人で、男女比はほぼ同数であった。年齢は3歳から94歳まで幅広く、20歳代が80人と最も多かった。患者の居住地域は現在の一関市が323人(79.6%)、岩手県内の合計は389人(95.8%)、宮城県は14人(3.5%)であった。疾患名は、埋伏歯などの歯の異常が225例で半数以上を占め、嚢胞66例、炎症52例、腫瘍30例などであった。5年間の全身麻酔下手術は320例、局所麻酔下手術が47例、消炎・栄養管理・処置などでの入院が36例であった。在院日数は1日から93日で、平均は8日であった。受診経路は院外紹介が371例(91.4%)、そのうち歯科からの紹介が349例(86.0%)、医科からの紹介が22例(5.4%)で、院内紹介が13例(3.2%)、紹介なしが22例(5.4%)であった。歯科からの紹介で最も多かったものは埋伏智歯抜歯の症例で、医科からの紹介で最も多かったものは炎症であった。今回の調査で、当科が岩手県南地域および宮城県北部における口腔外科診療機関として果たすべき役割は大きいことが確認された。今後は、さらに地域医療機関との協力を強化し、質の高い口腔外科医療の提供に努めていきたいと考えている。

大学院歯学研究科第3学年研究発表会

1. GFPマウス骨髄由来間葉系幹細胞株の骨分化における成長因子の影響

○五十嵐靖之, 帖佐 直幸*, 鬼原 英道, 石崎 明*, 近藤 尚知

岩手医科大学歯学部補綴・インプラント学講座, 生化学講座細胞情報科学分野*

背景・目的: 歯科インプラント等の欠損補綴の成否は顎骨の骨量によって左右されるため、生体材料の開発や各種成長因子の影響、体性幹細胞の利用など骨組織再生に関する様々な試みがなされている。骨芽細胞への分化能を有する間葉系幹細胞(MSC)は骨組織再生法への応用が期待されている。一方、モデル生物を利用した組織修復を評価するうえで、*in vivo*イメージング解析は重要なツールとなる。本研究ではgreen fluorescent proteinトランスジェニック

マウス(GFPマウス)より得られた株化MSCの性状を評価するとともに、MSCの増殖・分化に影響が大きいとされているtransforming growth factor(TGF)- β superfamilyのうち、bone morphogenetic protein(BMP)-2ならびにTGF- β への各MSC株の応答性について解析した。

方法: GFPマウスより骨髄由来MSCを採取してSV40とhTERT発現ベクターを導入後、薬剤耐性ならびに限界希釈法にて単一細胞由来細胞株を樹立した。樹立した細胞株についてMSCマーカーの発現をフローサイトメトリーで確認した。さらに骨分化誘導におけるBMP-2の影響とBMP-2刺激に起因するSmad1/5/8のリン酸化、さらにはTGF- β 1刺激に起因するSmad2/3のリン酸化をウェスタンブロットにて評価した。各MSC株の多分化能力についても、通法通りに評価した。本研究は岩手医科大学動物実験委員会の承認を得て実施された。

結果: GFPマウスの骨髄より3系統(SG2, SG3, SG5)のMSC株を樹立した。MSCマーカーの発現を解析したところ、全ての細胞株において主要なMSCマーカーであるSca-1とCD44が陽性であり、造血幹細胞マーカーのCD11bならびにCD45は陰性であった。次に、これらの細胞株の多分化能力について確認した。これら3細胞株を通法の骨芽細胞分化誘導培地で培養したところ、SG2とSG5は細胞間基質石灰化能力を示した。一方、これら3細胞株を通法の脂肪細胞分化誘導培地で培養したところ、全ての細胞株で脂肪の産生能力が確認された。さらに、TGF- β 1ならびにBMP-2刺激による各MSC株の応答性の違いを、これらのシグナル伝達因子の活性化に注目して調査したところ、BMP-2はSG3細胞においてSmad1/5/8のリン酸化を有意に促進した。加えて、興味深いことにBMP-2はSG3細胞の骨芽細胞分化を促進した。また、TGF- β 1はSG2細胞においてSmad2/3のリン酸化を有意に促進し、この細胞株の脂肪細胞分化を抑制した。

考察及び今後の展望: MSCの増殖や分化にTGF- β superfamilyが関与することは、これまでに多くの報告がされているが、そのほとんどは細胞培養レベルの*in vitro*での結果であり、*in vivo*での真の反応性を示せてはいない。本研究で、いずれも骨芽細胞や脂肪細胞への多分

化能力を持つ MSC 株 SG2, SG3 ならびに SG5 を得た。興味深いことに, SG2 は TGF- β 1 に応答性が強く, SG3 は BMP-2 に対する応答性が強いが, SG5 はこれらのいずれの刺激に対しても応答性が低かった。今後, これらの MSC 株を用いて *in vivo* 移植実験を行い, GFP の緑色蛍光でトレースすることで体内動態を確認しつつ, TGF- β や BMP が各細胞の増殖や分化にどのように影響するかについて調査を進める予定である。また現在, 各 MSC 株特異的にその増殖・分化能力を調節するシグナル伝達系の存在についてより詳細に明らかにすべく, 各 MSC 株の成長因子 / 受容体の発現頻度差についてプライマーアレイ等で網羅的に解析中である。

2. ヒト口腔扁平上皮癌細胞株 HSC-4 細胞における浸潤能発現機構の解明

○樋野 雅文, 客本 齊子*, 帖佐 直幸*, 水城 春美, 石崎 明*, 加茂 政晴*

岩手医科大学歯学部口腔顎顔面再建学講座口腔外科学分野, 生化学講座細胞情報科学分野*

背景・目的: 近年, 癌の浸潤および転移には, 上皮間葉転換 (EMT) が関与することが数多く報告されている。一方, 口腔領域において扁平上皮癌は最も発生頻度の高い癌である。我々はこれまでにヒト口腔扁平上皮癌細胞株 HSC-4 細胞において transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) 刺激が転写関連因子 Slug を介し EMT を誘導し高い遊走能を獲得することを報告した (J Biochem, 153:303, 2013)。そこで本研究は HSC-4 細胞の EMT における浸潤能に関わる因子について解析を行い, その浸潤のメカニズムについて検討する。

方法: 浸潤に関する遺伝子とタンパク質の発現は quantitative real time RT-PCR (qRT-PCR) およびウェスタンブロットによりそれぞれ解析した。また, 浸潤能の解析 (invasion assay) には細胞を invasion chamber (Matrigel コーティング) 上で 24 時間培養した後, culture insert 下面に浸潤した細胞をマイヤーヘマトキシリン溶液で染色することで観察した。プロテオーム

解析には, SDS-PAGE によりタンパク質を分離した後, LC-MS/MS により同定した。

結果: TGF- β 1 は, HSC-4 細胞の浸潤能を亢進した。この浸潤能に関与する因子を検索するために, 培養上清をプロテオーム解析したところ, TGF- β 1 刺激により MMP-10 の発現が上昇することが判明した。加えて, この TGF- β 1 刺激による MMP-10 の発現量の増大は, qRT-PCR を用いても確認された。次に, siRNA を用いて MMP-10 の発現をノックダウンし同様に invasion assay を行ったところ, TGF- β 1 刺激細胞の浸潤能は抑制された。さらに, EMT に重要な働きをする Slug と MMP-10 の発現との関連性について検討した。siRNA を用いて Slug をノックダウンし MMP-10 の発現量を調べたところ, TGF- β 1 の刺激にも関わらず MMP-10 の有意な減少を示した。一方, MMP-10 の発現に重要な働きをする Wnt タンパク質の発現について調べたところ, TGF- β 1 刺激により Wnt5b の発現が増大した。興味深いことに, Wnt 経路をそのシグナル伝達分子 Dvl の阻害剤などで不活性化すると, TGF- β 1 刺激により誘導された MMP-10 の発現は抑制された。さらに, Wnt5b の発現は Slug に依存することが siRNA を用いて示された。

考察及びまとめ: TGF- β 1 処理により MMP-10 の発現は増大し, HSC-4 細胞の浸潤能を上昇させることを見出した。また, この TGF- β 1 による MMP-10 の発現誘導は, Slug を介した Wnt5b の発現誘導の後に, この Wnt5b がオートクラインあるいはパラクライン的にこの細胞に作用して起こるものであることが示唆された。

3. 口腔軟組織における Bisphosphonate 製剤の作用に着目した BRONJ 発症機序の探究

○小松 祐子, 衣斐 美歩*, 星 秀樹, 帖佐 直幸**, 客本 齊子**, 加茂 政晴**, 杉山 芳樹, 石崎 明**

岩手医科大学歯学部口腔顎顔面再建学講座口腔外科学分野, 医歯薬総合研究所腫瘍生物学部門*, 生化学講座細胞情報科学分野**