解説

棟方 正信
西村 和晃

歯周組織再生のカスケード

歯周病は若い世代にもひたひたと迫っている。人生 80 年の世、自分の歯で老後の食生活を楽しむためにも、痴呆を予防するためにも、歯周病に一度は関心をもっていただきたい。最近の歯周組織再生療法には、従来除去されていたセメント質中の靱帯再生および骨再生に関与する細胞増殖因子群のマトリクリン刺激効果が注目されている。

Regeneration Cascade in Periodontal Tissue

Masanobu MUNEKATA^{*1}, Kazuaki NISHIMURA^{*2}, ^{*1}北海道大学大学院工学研究科分子化学専攻, ^{*2}大阪歯科大学歯周病講座

近頃、骨のリモデリングという最先端のシグナルトランスダクション研究を思い浮かべ、関心をもつ方が多いと思う。しかし、その対象となる疾患が骨粗鬆症という、若い読者にとってはまだまだ先の話との感が強いのではないだろうか。本稿のテーマである歯周病(いわゆる歯槽膿漏)も老人病といった感が強いが、調査では 35 歳以上の日本人で歯周病のない健康な歯茎をもつ人は 1%にも満たず、決して他人事ではない。

むし歯は痛みを伴うのに対し、歯周病はほとんど自覚症状がないまま進む病気である。歯周病では、歯と歯肉の間にある隙間に棲息する細菌が食べかすを栄養源として増殖、歯垢(細菌の塊)を形成する。細菌のエンドトキシンにより歯肉部マクロファージなどから炎症性のサイトカインであるインターロイキン(IL)-1が産生され歯肉炎(歯肉部に限局)が起こる。この初期段階なら、歯ブラシによる徹底的な清掃で治癒するが、放置すると歯茎が歯の表面から離れ、歯周ポケットが形成され、骨が溶けだし歯周炎(歯の周囲組織全体の炎症)となる。こうなると歯はぐらつき始め、血に代わって膿が歯茎から出てくる。たかが歯茎から血とあなどっていると歯を支えている歯槽骨が溶けだし、歯茎が大きく腫れ、治療不可能で、即拔牙という羽目に陥る。素人考えでは、歯喪失の原因はむし歯によるものが大半と考えがちだが、実は、歯周病によるものが半分以上を占める。厚生省による医療技術の未来予測によると、むし歯の無痛治療実用化が 2011~2015 年、歯周病の有効な治療法開発が 2016~2020 年となっており、歯周病治療法の改善は歯科領域では重要課題となっている。

歯周組織再生療法とは

最近、歯科治療を受けた読者の多くは、「なるべく自分の歯を大事にしましょう」という歯医者さんがほとんどで、すぐに抜いて入れ歯にしましょうという歯医者さんは少ないと感じていると思う。それは噛むという行為が食生活を楽しむ以外に、免疫、痴呆予防にも重要であることが明らかになってきたからである。そのため、失われた歯肉付着、歯槽骨を元通りにする再生療法の確立が求められている。

歯周組織再生療法の説明には、歯周組織の簡単な理解が必要なので、まず教科書的に歯周組織について述べることにする⁽¹⁾。

哺乳類の歯(釘植歯)の周囲には、歯を顎骨内に植立固定し、歯の機能を維持する一群の組織群がある。すなわち、セメント質、歯根膜(歯周靱帯)、歯槽骨および歯肉

図 1 ■ 歯周組織図

a: 健全, b: 歯周病罹患

組織(図 1-a)である。セメント質は、歯根(象牙質)面を覆う厚さ約 50~200 μm の特殊な石灰化組織で、象牙質とは異なるセメント芽細胞により象牙質の外側に形成される。セメント質には歯槽骨における破骨細胞のような吸収を行なう破セメント細胞が通常みられないので改造は生じない。そのため、法医学での年齢判定の手がかりの一つとされる。

セメント質には、歯肉、骨側からの線維が封入され、そしてその周囲は比較的疎な顆粒状物質により埋められている(図 2)。この線維性付着は、歯周病進行を妨げる最初のバリアーになるとともに、咀嚼力に対して必要不可欠な付着装置である。いわゆるこの線維群(歯周靱帯)

図 2 ■ 歯根膜腔：セメント質への歯周靱帯封入像

が歯に加わる力を緩衝するショックアブソーバーの役割を果たし、咬合力が歯槽骨へ直接伝わるのを防いでいる。ちなみに、歯周靱帯がなく骨にじかに歯牙がついているのが、進化の過程で哺乳類の前段階にあたる爬虫類で、歯周靱帯がないため歯牙は生きている限り絶えず生え替わっている。歯根膜組織(歯周靱帯)はその幅がわずか 0.15~0.38 mm でその両側に歯槽骨と歯セメント質がある。また、それらがはっきり分化していることが重要であり、発生分化ならびに再生の観点から、非常に興味ある実験系を提供していると考えられる。

軽度の歯肉炎は患者自身の歯磨きで治ると先に述べたが、歯周炎、特に高度に歯槽骨が溶けた重度歯周炎(図 1-b)は、歯周病専門医の治療が必要になる。その治療とは炎症でいたんだ歯肉を切開、除去したのち、歯の表面のエンドトキシンに汚染されたセメント質を除去して象牙質を露出させ、切開した歯肉を再び歯につける歯肉剝離搔爬手術である(図 3)。この療法の目的は、セメント質と歯周靱帯および歯槽骨の再生がバランスよく行なわれるようにすることである。しかし、この処置では理想的な治癒形態は得られないのが現状で、近年新しい治療方法の検討がなされている。

組織誘導再生術は、歯肉の新生結合組織が象牙質との接着面に進展してきて歯周靱帯の形成を阻害しないよう組織耐性のゴアテックス、ポリスチレン製障壁膜などで根面を被う方法である。さらにこの膜に修復組織誘導を促進する増殖因子を添加する試みもなされている。PDGF-AB(血小板由来増殖因子, AA, AB, BB などの

図 3 ■ 歯肉剝離搔爬手術処置

表 1 ■セメント質に含まれる歯周組織再生因子

再生活性	再生因子	結合する細胞外マトリックス
細胞走化	CDCf	I型コラーゲン
	PDGF-BB	SPARC (secreted protein acid and rich in cysteine)
細胞接着	CAP	コラーゲン?
	BSP	?
細胞分裂	CGF	?
	IGF-I	IGFBP-5(IGF binding protein-5)
	PDGFs	SPARC
	FGFs	ヘパラン硫酸プロテオグリカン
細胞分化	活性型 TGF- β	デコリン, フィブロネクチン, IV型コラーゲン
	潜在型 TGF- β (BMPs)	微小線維構造, トロンボスポジン (IV型コラーゲン)

型については後述)は *in vitro* 研究では良好な効果が報告されているが、臨床では効果があまり認められていない。

従来、完全に除去したセメント質を、エンドトキシンの浸透した表層部分だけ搔爬した場合、歯根膜組織の再生、さらには歯槽骨の再生がみられた。従来、マトリックスとしてしか考えられていなかったセメント質に、組織再生の鍵をにぎる物質の存在が推定されたため、ここ数十年、セメント質中の種々の接着因子、増殖因子が精力的に探索されている(表1)。

歯周組織再生はどうやって起こる?

歯の矯正時にみられるように、歯周組織再生は他の組織に比べ早いとされる。すみやかな支持組織の修復に

は、新生細胞の持続的供給が必要である。セメント芽細胞、歯周靱帯線維芽細胞はどこからくるのであろうか? 最近の動物実験で、骨髓幹細胞が血管を透過して歯根膜に移動、補充するという可能性が示されている。それら未分化間葉系細胞あるいは前駆細胞は、歯根膜内の血管周辺5 μ mに集積しており、骨に移動して骨芽細胞、セメント質に移動してセメント芽細胞、歯根膜では線維芽細胞に分化すると考えられている(1個の前駆細胞からすべてに分化するのか、別々の前駆細胞がそれぞれに分化するかはまだ不明)。

これらの考えを支持する有力な証拠を、筆者らはサルを用いた前臨床実験で得ている^(2,3)。ウシ歯セメント質粉砕粒子を特殊多孔性ゼラチン膜に包埋した複合化膜を、人工的に作製したサル骨欠損根面と剝離した歯肉弁と歯根面の間に挿入し、術後の治癒過程を調べた。術後7日目には根面のセメント質粒子のまわりに未分化間葉系細胞が集積してきてセメント芽細胞に分化し、10日目には新コラーゲン線維を生産している所見を得て(図4)、以下のような歯周組織再生、特にセメント質と歯周靱帯再生のカスケード仮説を立てた。

術後、歯根表面は創傷部環境によって脱灰され、セメント質コラーゲン線維が露出し、細胞誘導、付着、分化促進因子が放出される。その結果、①未分化間葉系細胞の走化性の活性化とその移動、②間葉系細胞のフィブロネクチンを介してセメント質露出コラーゲン基質への接着、③間葉系細胞分裂、増殖、④セメント芽細胞への分化、セメント質マトリックスの形成、⑤セメント質の石灰化という一連の反応が起こる。この仮説に基づい

図 4 ■歯肉剝離搔爬手術(セメント質粒子含有ゼラチン多孔膜挿入)後の組織像

a: 7日後, b: 10日後, Cp: セメント質粒子, Mc: 未分化間葉系細胞, Cf: コラーゲン線維, D: 象牙質

て、セメント質中の組織再生因子群について述べることにする。

セメント質の構成成分にはどんな物質があるか？

有機性基質の約90%はコラーゲン線維で、基質の50%は石灰化したヒドロキシアパタイトからなる。コラーゲン(タイプI, III)そのものにはPDL細胞(periodontal ligament cell; 歯周靱帯細胞)に対して接着、細胞走化活性がないことから、研究当初は非ECMタンパク質に関心が集まっていたが、最近、ECM(extracellular matrix; 細胞外マトリックス)がサイトカインのように半減期の短い生理活性物質の安定保持と徐放出に関与することや、FGF(線維芽細胞増殖因子)に対しヘパラン硫酸プロテオグリカンが安定化と活性化に関与すること⁽⁴⁾、あるいはPDGF-BB, TGF- β (形質転換成長因子), IGF-I(インスリン様増殖因子)の潜在型の保持などの機能が判明するに従って再度見直されてきている。

細胞走化性因子にはどんな物質があるか？

歯肉付着には、創傷部歯根膜細胞の根面への接着が重要と考えられていたため、未分化間葉系細胞を根面に走化させることはあまり研究されておらず、後述する接着因子に重点が置かれていた。しかし、実際はすでに分化し歯根膜に存在するPDL細胞は付着に必須のセメント質形成に関与しないようである。未分化間葉系細胞あるいは前駆細胞がセメント芽細胞、線維芽細胞、骨芽細胞になるとの説が有力となり、接着因子についても走化活性が検討されている。セメント質中の走化性因子としてはCDCF, PDGFsなどがある。

1. CDCF(cementum derived chemotactic factor)

再生の要は未分化間葉系細胞の根面への走化という観点から、筆者らはセメント質中の細胞走化性物質の単離精製を行なった^(5,6)。走化性物質のセメント質からの溶出は、組織液の一種である創傷部浸出液によって行なわれるので、抽出にはPBS(pH7リン酸緩衝生理食塩水)を用いた。ゲル濾過クロマトグラフィーで6つの分画に活性が認められ、細胞走化活性以外にもTGF- β (潜在型含む), BSP(bone sialoprotein)活性を検出した。ゲル濾過で他の活性と重複しない27万の分画をさらにイオン交換、ヒドロキシアパタイトなどで精製したところ、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で66 kDaの

シングルバンドCDCFを得た。*in vitro*でCDCFは未分化間葉系細胞に対しhPDGF-BBより約10倍高い走化活性を示したが、増殖活性は低かった。マイルドな抽出では57万分画からも単離され、セメント質中ではコラーゲンマトリックスに保持された状態での存在が推定された。

この研究で、従来かなり過激な抽出条件でないと抽出されないと報告されていたBSPやTGF- β (潜在型含む)が生理食塩水で抽出されること、さらに種々の高分子の状態で存在することがわかった。セメント質は、コラーゲンマトリックス中に、これら細胞増殖因子、分化因子を保持していることが裏づけられた。

2. PDGFs(platelet-derived growth factors)

PDGFsは細胞増殖因子として有名だが、セメント質から単離された報告はない。しかし筆者らは、プレセメント質(セメント質の最上層部にある硬組織)に活性を検出した。PDGFsは創傷部位で検出され、多くの創傷治癒に関与していること、PDL細胞に走化活性を有することから、早くから歯周組織再生への臨床応用が検討されてきた。血小板由来の遊離型天然物(PDGF-AB)を使用した初期の研究ではかなりの量を投与しないと効果がなかったが、その原因が組換え体が得られるようになって解明された。すなわち、歯周組織の一つ、歯槽骨はTGF- β の貯蔵場所であり、またセメント質にも潜在型TGF- β をはじめ様々な分子形態のTGF- β が存在していることがわかってきたが、このTGF- β がPDL細胞のPDGF- α レセプター(A, B鎖結合)の発現を阻害するが、PDGF- β レセプター(B鎖のみ結合)の発現は阻害せずむしろ促進することがわかったのである⁽⁷⁾。PDGFが細胞にシグナルを伝達するには2量体を形成し、たとえばA鎖の2量体PDGF-AAは α レセプターと結合し、さらに α レセプターがついてレセプター側も2量体を形成し、シグナル伝達が起こると考えられている。 α レセプターがない細胞では、PDGFのシグナルはBB- $\beta\beta$ の組合せ以外に伝達されないことになる。

最近、この考えからPDGF-BBとIGF-Iを用いた前臨床実験がなされている⁽⁸⁾。 β レセプターの刺激は細胞増殖シグナルの他に走化シグナルをPI3K(phosphatidylinositol 3-kinase)関与で行なうと考えられている。PDGF-BB, IGF-Iともに受容体はチロシンキナーゼ型で2量体で活性を示すが、走化におけるPDGF-BB, -ABとPDGF-AA間の拮抗阻害関係⁽⁹⁾はなく、PDL細胞の増殖に*in vitro*で相乗効果を示すことが知られている⁽¹⁰⁾。その原因は不明だが、一つはIGF-Iは

レセプターチロシンキナーゼにより IRS-1 (insulin receptor substrate-1) がチロシンリン酸化され、それに PI3K が結合するのに対し、PDGF- β レセプターでは自己リン酸化部位につくという違いがある。もう一つ考えられる原因としては、細胞膜の抗接着物質の産生制御である。両者とも hGF (human gingival fibroblasts; ヒト歯肉線維芽細胞) と hPDL 細胞のデコリン mRNA レベルを下げパーシカン mRNA レベルを上げるが、hPDL 細胞のビグリカン mRNA を上げるのは IGF-I だけという報告⁽¹¹⁾ がある。PDGF と IGF-I の相乗効果の作用機構解明の糸口と考えられる。

細胞接着因子にはどんな物質が関与しているか？

セメント質に含まれるコラーゲン以外の有機性基質成分としてはプロテオグリカン(デコリン, パーシカン, パーレカン, シンデカン, CD44)と接着性糖タンパク質(フィブロネクチン, テネイシン)がすでに知られていたが、組織再生療法において効果がないことから、セメント質には別の接着活性因子の存在が推定され研究されてきた。接着活性については、CAP, BSP などがあげられる。

1. CAP(cementum-derived attachment protein)

CAP は皮肉なことに当初、非コラーゲンタンパク質として、抽出後バクテリアルコラーゲナーゼ処理して得られるウシ歯セメント質由来物質として研究されてきた⁽¹²⁾。最近、アミノ酸組成分析から Gly-X-Y 反復のコラーゲン特有のヘリックスをもつことがわかった。部分分解ペプチドの一つはコラーゲン XII のドメインと 82 % のホモロジーを、また他のペプチドはウシコラーゲン $\alpha 1$ と 68~95 % のホモロジーをもつが、CAP そのものはタイプ V, XIII, XIV の抗体と交叉しないことなどにより、セメント質特有の新しい細胞接着コラーゲンと考えられている⁽¹³⁾。CAP は遊走と接着の両方の活性を有するが、遊走および接着活性は hABC (human alveolar bone cell; ヒト歯槽骨細胞), hPDL, hGF の順と一致しているとの報告である。接着活性は RGD (Arg-Gly-Asp) ペプチドにより阻害されることから、フィブロネクチンと同じく RGD 関与の細胞接着と考えられている⁽¹²⁾。hPDL 前駆細胞 (progenitor) に対する CAP の細胞接着量とアルカリホスファターゼの発現量が正相関することから、CAP は前駆細胞に接着し、セメント芽細胞に分化させるのではないかと考えられている⁽¹⁴⁾。

2. BSP(bone sialoprotein)

BSP は、セメント質を 4 M グアニジン塩酸で抽出し、その残渣をさらに 4 M グアニジン塩酸/0.5 M EDTA で抽出という過激な抽出法で得ている。メインの約 70 kDa の細胞接着タンパク質は、抗 BSP-II 抗体を用いたウェスタンブロッティングにより BSP-II と結論づけられている。また、RGD 配列ペプチドにより阻害されることから、細胞接着活性はフィブロネクチン同様に RGD 関与としている⁽¹⁵⁾。BSP-II は骨抽出物の DEAE セルロースクロマトグラフィーで得られる 2 つの物質のシアル酸含量の多いほうの物質として、すでに報告されていた (現在は bone sialoprotein, ちなみにもう一つは BSP-I で、現在はオステオポンチンという名称である)。BSP 接着後、どのようなシグナルを出して PDL 細胞の分化や歯周靱帯再生に関与しているかは不明である。

細胞増殖因子にはどんな物質があるのか？

歯根面に走化してきた未分化間葉系細胞は、接着後、増殖しセメント芽細胞、歯根膜細胞に分化すると考えられている。増殖には走化の項で述べた PDGFs, IGF-I などの関与が考えられていたが、それらとは異なる増殖因子 CGF が報告されている。

CGF(cementum-derived growth factor)

CGF はヒト歯セメント質を 1 M 酢酸で 1 週間抽出して得られた物質で、ヘパリンアフィニティクロマトグラフィーの溶出位置から IGF, EGF ではない新規の増殖因子 23 kDa として取られた⁽¹⁶⁾。SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動では 18~22, 14~16 kDa と 2 つのバンドが得られ、当初は 18~22 kDa が活性本体とされ、CGF 刺激により hGF の細胞内 Ca イオン、イノシトールリン酸濃度の増加、チロシンキナーゼ、セリン-スレオニンキナーゼ、プロテインキナーゼ C の活性化、*c-fos*, *jun-B* mRNA の発現が認められたとのことだった。しかし最近、増殖促進活性は 14~16 kDa が主であり、hABC に対して IGF-I より高い活性を示すが、hGF に対しては IGF-I とほぼ同程度であること、CGF の分子内ペプチドに IGF-I レセプターの認識部位と完全に共通のアミノ酸配列があること、CGF の hGF に対する増殖促進活性は IGF-I および IGF-I レセプターに対する中和抗体で中和されたとの報告⁽¹⁷⁾ があり、IGF-I との関連性が再度問題化している。

分化因子として関与しているのは？

未分化間葉系細胞がセメント芽細胞、歯根膜細胞に分化しコラーゲン産生するには、CAP, IGF-I, TGF- β などの増殖因子が関与すると推定されている。また、骨芽細胞分化には、その他に BMPs (bone morphogenetic proteins; 骨形成因子) が関与していると考えられている。

1. IGF-I, -II (insulin-like growth factor-I, -II)

骨に一番多く存在する増殖因子は IGF-II で約 1,200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、次が TGF- β で 200~400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、IGF-I は 50~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ である。セメント質では高速液体クロマトの溶出位置から存在が推定されている⁽¹⁶⁾が、含量については不明である。IGF-I は *in vivo* でラットの臼歯セメント質の合成を促進するとの報告があるが、イヌではさほど効果がなかったとの報告もあり、効果は定かでない。IGF-I は骨芽細胞での実験では増殖、分化、I 型コラーゲンの産生を誘導する⁽¹⁸⁾。骨芽細胞から分泌されることから、オートクリン機構で制御されていると考えられている。IGF-II は *in vitro* では IGF-I とほぼ同程度骨芽細胞の走化を促進するが、I ほど強力な骨形成促進作用はないとの報告もある。*in vitro* では、IGF-I は単独よりも TGF- β 、PDGF、FGF-2 などとの複合使用で、相乗的な骨芽細胞の分裂促進を示すとされている。

2. TGF- β (transforming growth factor- β)

TGF- β には数種類あるが、調べられているのは主と

して TGF- β 1 である。TGF- β 1 は I 型コラーゲン、フィブロネクチン、オステオネクチンの合成促進⁽¹⁹⁾の他に、TIMP (tissue inhibitor of metallo-proteinase)、PAI (plasminogen activator inhibitor) などの合成を促進させ、マトリックス破壊を減少させて骨形成の比較的初期に働くと考えられている。骨修復には重要であるが、創傷治癒部に多量に存在する遊離型 PDGF-AB による PDL 細胞の細胞増殖、走化活性を阻害するというのは、かなり重要な意味をもつ。

3. BMPs (bone morphogenetic proteins)

BMPs は *in vitro* で骨芽細胞の分化を促進し、*in vivo* で異所性に骨形成を誘導する因子である。最近、BMP 2,4, FGF 8 との相互作用で歯のできる位置が決定されるという仮説⁽²⁰⁾が提出され、歯形成因子としての機能も注目されている。歯周靱帯再生も *in vivo* で確認されているが、ところどころ歯根と骨との直接結合アンキローシスが起これば治療には適さないことが報告されている⁽²¹⁾。BMP の骨形成については詳しい総説が多数出ているのと、BMP はセメント質からはまだ単離された報告がないので、この程度の記載にとどめる。

セメント質は異域同歩

以上、セメント質中の主要な再生因子について述べてきたが、再生は 2~3 の因子では不可能であることがわかる。歯肉剥離搔爬手術後、未分化間葉系細胞はセメント質搔爬根面に向かって歯根膜内を走化するわけだ

用語解説

デコリン: PG (プロテオグリカン)-II。細胞マトリックス中の抗接着活性を有するプロテオグリカン。ロイシンを多く含んだ繰り返し構造をもち、コアタンパク質 36 kDa に 1 本のデルマトン硫酸鎖が結合している。

パーカシン: PG-M ともいう。ヒアルロン酸、フィブロネクチン、コラーゲンと結合する性質を有する大型プロテオグリカン。コアタンパク質 500~550 kDa に平均 10 本のコンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸混成の長いグリコサミノグリカン鎖と、N-結合型、O-結合型オリゴ糖鎖をもつ。

ビグリカン: PG-I。細胞マトリックス中の抗接着活性を有する小型プロテオグリカン。コアタンパク質 38 kDa には、ロイシんに富む 24 個のアミノ酸を含む構造の 12 回の反復配列があり、2 本のグリコサミノグリカン鎖結合部位がある。コンドロイチン硫酸/

デルマトン硫酸の混成鎖が結合している。

アンキローシス: 相対する組織面が癒着し可動性をまったく喪失した状態をいい、結合組織で癒着しているものを線維性硬直、骨組織で連結しているものを骨性硬直という。

ジャスタクリン: 増殖因子はパラクリン (傍分泌作用)、またはオートクリン (自己分泌作用) という形で作用すると考えられていたが、パラクリンの特殊な形としてジャスタクリン (接触作用) が考えられている。増殖因子 (TGF- α 、HB-EGF など) が細胞膜に結合した形で存在し、細胞と細胞が接触したときにその作用が発揮されること。

マトリクリン: 細胞が細胞外マトリックスに接触したときに、細胞外マトリックス (ラミニン、コラーゲン V など) にトラップされている増殖因子 (前駆体、複合体を含む) の作用が発揮されること。

が、走化にはセメント粒子から組織内に抗接着物質が溶出し走化を助けるが、引き寄せられる PDGF-AB、-AA は TGF- β に阻害され効果が出ない。おそらくこのとき、CDCF、PDGF-BB などが TGF- β の阻害を受けずに走化を誘引すると考えられる。引き寄せられ歯根に接着する段階になると、デコリンなどの抗接着プロテオグリカンが阻害するが、それらの抗接着因子を抑えて接着促進するのが CAP、BSP と考えられる。そして分化する際は、走化の阻害物質として作用していた TGF- β が関与すると考えられる。すなわち、セメント質には再生の各過程で促進、阻害の物質が混在していることになる。それでもセメント質粒子には、セメント質、歯周靱帯および骨再生をほぼ同時進行で遂行する能力がある。それでは、これらのコントロールは何が担っているのだろうか？

船頭(コントロール役)はマトリックス？

最近、細胞増殖/走化/分化因子、あるいはサイトカインの活性が、細胞接着や ECM によってうまくコントロールされていることがわかってきた。その説明に答えてくれる一つに、膜アンカー型の増殖因子がある。膜アンカー型増殖因子は、ジャクスタクリンあるいはマトリクリン刺激機構を介して、細胞と細胞が接触した状態あるいは細胞と ECM が接触した状態で機能発現をもたらす。今までは、増殖因子は局所的に分泌された増殖因子が近傍の細胞に(パラクリン)、あるいは分泌した自分自身の細胞に作用する(オートクリン)という考え方が主流で、膜結合型の増殖因子は前駆体として不活性型と考えられていた。しかし、神経系の発生など特定の細胞だけを標的として増殖・分化させるプロセスには、細胞と細胞が接触した状態で、あるいは走化到達地点で ECM から分化・増殖のシグナル伝達が必要があり、その際、膜アンカー型因子の利点が推定されている。すなわち、膜アンカー型は細胞表面に固定化されているので局所濃度が高く、細胞接触により相手細胞のレセプターに持続的にシグナルを伝達できることと、細胞膜表面で因子自体がオリゴマーを形成し作用が発揮しやすくなるなどである。

セメント質粒子を用いた前臨床実験の結果、単独あるいは複数の増殖因子を用いた実験とは違い、完璧なセメント質、歯周靱帯、歯槽骨の再生が認められている。セメント質粒子は生きた細胞ではないが、粒子表面には ECM と結合した活性型 TGF- β 、潜在型 TGF- β 、IGF-I、PDGF-BB、CAP、CDCF などが存在すると考えら

図 5 ■セメント質粒子による歯周靱帯再生のカスケードモデル

Mc はセメント質粒子から溶出する CDCF により走化性が活性化され、粒子に向かって走化、粒子の CAP、BSP に接着し、IGF-I、CGF、PDGF-BB などのマトリクリン刺激機構により増殖し、さらに TGF- β 、CAP により Cb に分化、Cf を産生し靱帯を形成する。Mc：未分化間葉系細胞、Cb：セメント芽細胞、Cf：コラーゲン線維、Tc：テネジシン、PG：プロテオグリカン、LAP：latency associated peptide

れ、これらが膜アンカー型因子として、セメント質から溶出した走化因子 CDCF、PDGF-BB により引き寄せられた(走化してきた)未分化間葉系細胞と接触することで、増殖・分化因子としてマトリクリン機構を介して効率よく作用し、またある因子はそれらの接着細胞が分泌する膜アンカー型メタロプロテアーゼで切断され分泌型として周辺の細胞にパラクリンの働き、秩序立った再生がなされる機構が考えられる(図 5)。すなわち、セメント質粒子のもつマトリックス構造が、含有する種々の走化/増殖/分化因子を、時間的にも空間的にも再生過程に合わせて標的細胞にシグナルを与えていると推定できる。

hPDGF-BB/hIGF-I の前臨床(歯周病患者)では *in vitro* (10 ng/ml) の知見からは比べものにならない多量の投与(300 μ g/ml/lesion)が必要である⁽⁸⁾。セメント粒子では *in vitro* の結果との開きは大きくはない。今後、歯周組織再生因子の投与方法としても、セメント質粒子構造をモデルに研究する必要があると考えられる。

文献

- 1) A.R. Ten Cate : "Oral Histology", 4th ed., Mosby, 1994.

- 2) K. Nishimura, Y. Noguchi, Y. Fukase, K. Suwa, A. Yamaoka & E. Yoshikawa : *J. Electron Microsc.*, **44**, 91 (1995).
- 3) K. Nishimura, H. Kitamura, M. Naito, A. Yamaoka, E. Yoshikawa & T. Makita : *J. Biomed. Mater. Res.*, **29**, 223 (1995).
- 4) I.J. Mason : *Cell*, **78**, 547 (1994).
- 5) K. Nishimura, M. Hayashi, K. Matsuda, Y. Shigeyama & A. Yamaoka : *J. Periodont. Res.*, **24**, 146 (1990).
- 6) 鷹野アユム, 坂内厚一, 富樫 亮, 小野寺雄一郎, 西村和晃, 柴 肇一, 棟方正信 : 平成9年度日本生物工学会大会講演要旨集, 1997, p.38.
- 7) T.W. Oates, K.N. Kose, J.F. Xie, D.T. Graves, J.M. Collins & D.L. Cochran : *J. Cell. Physiol.*, **162**, 359 (1995).
- 8) T.W. Howell, J.P. Fiorellini, D.W. Paquette, S.T. Offenbacher, W.V. Giannobile & S.E. Lynch : *J. Periodontol.*, **68**, 1186 (1997).
- 9) A. Siegbahn, A. Hammacher, B. Westermarck & C.-H. Helden : *J. Clin. Invest.*, **85**, 916 (1990).
- 10) N. Matsuda, W.-L. Lin, M. Kumar, M.I. Cho & R.J. Genco : *J. Periodontol.*, **63**, 515 (1992).
- 11) H.R. Haase, R.W. Clarkson, M.J. Waters & P.M. Bar-told : *J. Cell. Physiol.*, **174**, 353 (1998).
- 12) B. McAllister, A.S. Narayanan, Y. Miki & R.C. Page : *J. Periodont. Res.*, **25**, 99 (1990).
- 13) D. Wu, K. Ikezawa, T. Parker, M. Saito & A.S. Narayanan : *J. Bone Miner. Res.*, **11**, 686 (1996).
- 14) S. Pitaru, S.A. Narayanan, S. Olson, N. Savlon, H. Hekmatl, I. Alt & Z. Metzger : *J. Periodont. Res.*, **30**, 360 (1995).
- 15) M.J. Somerman, J.J. Sauk, R.A. Foster, K. Norris, K. Dickerson & W.S. Argraves : *J. Periodont. Res.*, **26**, 10 (1991).
- 16) K. Yonemura, A.S. Narayanan, Y. Miki, R.C. Page & H. Okada : *Bone Miner.*, **18**, 187 (1992).
- 17) 池澤一彦, 岡田 宏 : 日本歯周病学会誌, **39**, 117 (1998).
- 18) J.M. Hock, M. Centrella & E. Canalis : *Endocrinology*, **122**, 254 (1988).
- 19) L.F. Bonewald & G.R. Mundy : *Clin. Orthop.*, **250**, 261 (1990).
- 20) A. Neubuser, H. Peters, R. Balling *et al.* : *Cell*, **90**, 247 (1997).
- 21) T.J. Sigurdsson, M.B. Lee, K. Kubota, T.J. Turek, J.M. Wozney & U.M. Wikesjo : *J. Periodontol.*, **66**, 131 (1995).

プロフィール

竹中 明夫 (Akio Takenaka) 昭和33年7月13日生<略歴>1981年東京大学理学部生物学科卒業/1986年同大学大学院理学系研究科博士課程修了/同年国立公害研究所研究員/1990年改組により国立環境研究所主任研究員, 現在にいたる<研究テーマと抱負>植物の形と機能, シベリアのカラマツ林の研究, 森林の個体ベースモデルなど. 主な活動の場は野外の自然と計算機の中<趣味>外国語, 草野球, ヘボ将棋

永井 和夫 (Kazuo Nagai) 昭和16年2月23日生<略歴>1964年東京大学農学部農芸化学科卒業/1969年同大学大学院農学系研究科農芸化学専攻博士課程修了後, 微生物化学研究会附属微生物化学研究所研究員, 東京大学農学部助手, 助教授を経て, 1989年東京工業大学生命

理工学部教授, 現在にいたる<研究テーマと抱負>免疫系, 骨代謝系に作用する生理活性物質の探索と作用機構, 細菌の細胞複製制御機構<趣味>美しいものを観ること, 体を動かすこと

永井 宏史 (Hiroshi Nagai) 昭和35年11月23日生<略歴>1983年東北大学農学部食糧化学科卒業/1985年同大学大学院農学研究科修士課程修了/同年大洋漁業(株)(現マルハ)勤務/1993年千葉大学真核微生物研究センター研究生/同年米国ハワイ大学医学部客員研究員/1995年(財)サントリー生物有機化学研究所研究員, 現在にいたる. この間, 1988~91年東北大学農学部受託研究員<研究テーマと抱負>海産生物由来の生理活性物質の化学とその作用機構. 現在クラゲの毒に興味

永沼 孝子 (Takako Naganuma) 昭和31年11月27日生<略歴>昭和54年東北大学農学部食糧化学科卒業/同大学医学部産科学婦人科学教室勤務/平成5年同農学部植物資源化学研究室技官/9年同助手, 現在にいたる<趣味>アコヤガイレクチンの構造解析と生理機能, 大豆タンパク質の食品機能性

西原 和代 (Kazuyo Nishihara) 昭和44年12月29日生<略歴>平成4年京都大学農学部食品工学科卒業/6年同大学大学院農学研究科食品工学専攻修了/同年(株)エイチ・エス・ピー研究所入社, 現在にいたる<研究テーマと抱負>大腸菌における外来蛋白質安定生産系の開発<趣味>合唱, 生け花