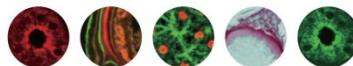


Japanese Association
for Oral Biology

歯科基礎医学会

編集・発行: *Journal of Oral Biosciences* 編集委員会<http://www.elsevier.com/journals/journal-of-oral-biosciences/1349-0079/editorial-board>

ここに JOB News Letter Vol. 10 をお送りします。

57 巻 2 号は 10 編の総説と 3 編の原著論文を掲載しております。下記の URL から原文を閲覧下さい。閲覧サイトは複数ありますので使い分け下さい(会員用サイトは認証が必要になります。閲覧方法もご覧下さい)。

●サイエンスダイレクト

<http://www.sciencedirect.com/science/journal/13490079>●会員用サイト(閲覧方法:http://www.jaob.jp/news/120529_jarnal.html)<http://www.journaloforalbiosciences.org/>

●エルゼビアサイト

<http://www.elsevier.com/journals/journal-of-oral-biosciences/1349-0079>

●投稿サイト

<http://ees.elsevier.com/job/>

●J-stage (2011 年まで)

<https://www.jstage.jst.go.jp/browse/joralbiosci>

●メディカルオンライン (2011 年まで)

<http://mol.medicalonline.jp/archive/select?jo=ct4biosc>

【アナウンス】

Thomson Reuters への IF 申請は 56 巻 3 号発行後に完了していますので、審査対象は 56 巻 4 号、57 巻 1 号、57 巻 2 号が対象(前向き調査)になりますが、審査は審査期間中に出版された全ての巻号を対象に行われるとのことです。SCI ジャーナルからのコンテンツの引用が鍵を握ります。

Medline (PubMed) 申請については 57 巻 2 号発行後を予定しています。後向き調査ですので、直近 4 号分(56 巻 3 号~57 巻 2 号)が対象になります。Journal of Oral Biosciences 誌のレベルアップに会員皆様のご協力を期待しております。

*Volume 57, Issue 2, Pages 45-130 (May 2015)***Reviews**

JAOB/Rising Members Award

Cell-extracellular matrix interactions in oral tumorigenesis: Roles of podoplanin and CD44 and modulation of Hippo pathway

Masayuki Tsuneki, Joseph A. Madri, Takashi Saku

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1349007915000304>

背景: 腫瘍形成過程における腫瘍細胞と細胞外マトリックス間クロストークを調べた研究は数多くあるが、このクロストークの役割は十分に分かっていない。このクロストークは、腫瘍微細環境における腫瘍細胞・間質・間質細胞間のダイナミックな相互作用によって調節されている。我々の最近の所見に導かれ、我々は細胞・細胞外マトリックス相互作用を調節する選択的な接着分子とシグナル経路、特にポドプラニン・CD44・Hippo 経路に着目している。我々の研究は、これらの分子間相互作用と Hippo 経路が特定の腫瘍と間質細胞のふるまいを調節することを示してきた。

重要事項: 膜貫通型シアロムチン様タンパク質であるポドプラニンは、歯源性腫瘍、唾液腺腫瘍、口腔扁平上皮癌の腫瘍細胞の細胞間隙に面する細胞表面や細胞外マトリックスに面する細胞表面に局在する。ポドプラニンと CD44 は口腔扁平上皮癌細胞をヒアルロナン豊富な細胞外マトリックスに付着させ、その細胞増殖を促進する。オルタナティブスプライシング型多ドメイン多機能膜貫通型タンパク質である CD44 は、Hippo 経路を介した接着分子 CD31 や血管内皮 (VE) カドヘリンを調節するにより血管内皮細胞の生存を調整している。これらの接着分子を欠く内皮細胞は、接触阻止を逃れ、異常な増殖を示す。ネズミの血管内皮種細胞においては、CD31 と VE カドヘリンの減少した発現が Hippo 経路を変調させ、結果としてその遅延性の生存、増殖、浸潤をきたす。

結論: 腫瘍細胞と細胞外マトリックス間の接着分子を介したクロストークによって開始するシグナル経路が、腫瘍特異的組織の駆動や維持、および腫瘍の生存、成長、転移の寄与に重要な役割を果たしている。

The Front Line of Bioimaging-New Light Shining on Oral Biosciences

Development and application of fluorescent protein-based indicators for live cell imaging

Akihiko Tanimura

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1349007915000328>

背景: 蛍光分子イメージング技術の発達は、細胞および細胞内レベルでの特定の分子の局在とダイナミクスを特徴づけることを可能としてきた。

重要事項: イメージング装置(蛍光顕微鏡)や蛍光指示薬の進歩は、蛍光イメージング技術の発展に寄与してきた。特に生物発光クラゲのオワンクラゲからの緑色蛍光タンパク質のクローニングとその後の他の蛍光タンパク質の発展は、イメージング技術に革命を起こし、分子・細胞生物学的研究における応用を加速してきた。二種類の遺伝的にコードされた蛍光指示薬、すなわち蛍光共鳴エネルギー移動に基づくレシオメトリック指示薬と単一蛍光タンパク質 (FP) に基づくインテンシメトリック指示薬がある。FP に基づく指示薬の主な長所は、自然に進化したタンパク質センサー・ドメインの取り込みによって目的を果たす分子的・生理学的的事象に対しての高い感受性と特異性である。結果として、細胞内シグナル、酵素活性、アポトーシス、細胞周期の進行、その他の細胞事象のモニタリングを可能にする数多くの蛍光指示薬が開発されてきた。FP に基づく指示薬は、時間的に調節された方法で特定の細胞に発現しうる。従って、長期間のインビトロおよびインビボの実験に都合が良い。

結論: FP に基づく指示薬の長所は、その応用を生きた動物における生理学的な反応における特定の分子や細胞事象の機能の理解へと広がっている。

Osteocyte bioimaging

Hiroshi Kamioka

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1349007915000286>

背景: 新たに開発された可視化方法は、しばしばバイオサイエンス分野にブレークスルーをもたらす。特に、細胞における時間的・空間的反応を明らかにする能力、一方ではバイオイメージング技術を介した分子事象の可視化は非常に重要である。そのような事象の一つは、骨細胞による骨のリモデリングの調節である。骨細胞突起は、骨に引き起こされた機械的刺激によって骨細管を通して駆動する間質液の流れを感じると考えられている。しかしながら、その流れが細胞反応を引

き起こす詳細なメカニズムは、いまだに分かっていない。

重要事項:骨細胞やその周囲の微小環境から詳細な形態学のおよび／または形態計測学的データを得ることは重要である。本総説では、骨における骨細胞の形態を可視化するための共焦点レーザー走査顕微鏡法と骨における骨細胞の機械的感受性を明らかにするための超高電圧電子顕微鏡(UHVEM)と流体の流れのコンピュータシミュレーションの組合せの応用について述べる。

結論:骨細胞突起の微細構造やその周囲の骨基質同様骨における骨細胞ネットワークが可視化された。我々は、蛍光が骨細胞ネットワークの形態を研究するのに有用であることを見いだした。加えて、UHVEM とコンピュータシミュレーションの組合せは、骨細管の流体の流れを研究する強力なツールである。

Live imaging to elucidate cell dynamics in tooth organogenesis and regeneration

Hidemitsu Harada, Mika Kumakami-Sakano, Naoki Fujiwara, Keishi Otsu

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1349007915000316>

背景:歯の発生は上皮間葉相互作用を必要とし、その分子メカニズムが様々な成長因子シグナル研究で明らかにされてきた。しかしながら、推測された分子メカニズムと成長する歯胚の形態変化の組織学的観察との間に不一致がみられる。歯の形態形成メカニズムを解明するために、細胞のダイナミクスの直接的な観察が必須である。

重要事項:発生中の歯胚における細胞のダイナミクスと形態学的変化の直接的な観察方法は開発されていなかった。本レビューで、我々は歯の形態形成過程における細胞のダイナミクスの観察を示し、最近の研究で用いられている新しいイメージング技術を概説する。我々はまた、ライブ・イメージングの重要性とその分野での潜在的応用について記述する。

結論:タイムラプス撮影は、細胞の動きや細胞系譜を理解するのに有用なツールであり、歯の発生メカニズムの解明に寄与するであろう。

In vitro and in vivo imaging of intracellular Ca²⁺ responses in salivary gland cells

Akihiro Nezu, Takao Morita, Akihiko Tanimura

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1349007915000298>

背景:唾液腺は主に二つの上皮細胞系、すなわち腺房細胞と導管細胞からなる。腺房細胞のムスカリン性アセチルコリン受容体を活性化すると、細胞内 Ca²⁺貯蔵所からイノシトール 1,4,5-三リン酸媒介 Ca²⁺の放出が誘導され、形質膜を通過する Ca²⁺の流入が続く。細胞内 Ca²⁺濃度 ([Ca²⁺]_i) の増加は流体分泌に関与するイオンチャネルや輸送体を活性化し、[Ca²⁺]_i は腺房細胞の最初の流体分泌シグナルとして作用する。

重要事項:Ca²⁺イメージング技術の発展は単離した腺房細胞の時空間的な Ca²⁺ダイナミクスの広範な研究を可能にしてきたが、インビボにおける Ca²⁺反応と流体分泌との関係は未だ十分に理解されていない。唾液腺細胞におけるインビボ Ca²⁺イメージングは、唾液腺分泌中の Ca²⁺反応を決定するのに必要である。最近我々は、遺伝的にコードされた Ca²⁺指示薬 YC-Nano50 を発現するアデノウイルスベクターを逆行性に導管内に注入することにより、生きた動物のラット顎下腺 (SMG) 腺房細胞における Ca²⁺反応をモニタリングする生体内イメージングシステムを開発した。YC-Nano50 の発現は SMG 中に観察され、我々は YC-Nano50 が SMG 細胞の Ca²⁺反応をモニタリングするのに機能的であることを確認した。アセチルコリンの投与は SMG での [Ca²⁺]_i を有意に増加させ、この増加は徐々に静止レベルまで減少した。

結論:我々は、生きた動物内 SMG 腺房細胞におけるアゴニスト誘導 Ca²⁺ダイナミクスを可視化することに成功した。この新しい実験システムは、インビボにおける Ca²⁺反応と唾液腺分泌との関係を理解するための強力なツールであることを示している。

Quantitative in situ fluorescence imaging to unveil the morphological and functional heterogeneity of osteocytes

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1349007915000274>

背景: 多彩で高コントラストなイメージにより、蛍光イメージングは長らく他の実験アプローチで示唆された従来の仮説や考えを確証するための強力なツールであった。

重要事項: 蛍光イメージングによって得られたデータは蛍光強度同様時空間的な情報の数値データを含むので、量的蛍光イメージングは時空間的な情報と量的な解析を組み合わせることにより新しい知見を提供しうる強力なツールであると考えられる。

結論: 本ショートレビューは、組織学的な骨切片における量的蛍光イメージングの応用と骨細胞生物学への寄与を示す。骨細胞生物学において、蛍光イメージングは骨細胞が形態学的にも機能的も異質性の集団であることの新しい証拠を提供した。量的蛍光イメージングの現在の方向性と将来の応用についても本レビューで考察される。

Biodental Engineering-Integration of Biology and Material Science

Biodental engineering

Takuya Matsumoto, Hiroshi Egusa, Koichi Kato, Takashi Tsuji

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1349007915000250>

背景: 解決できる問題はほとんど解決されると推定されている。結果として、ほとんどの残っている問題は、解決策を探すことを諦めた問題であり、現在このことは生物学研究にとって最も大きな問題である場合がある。従って、生物科学の持続した前進のためには、現在の生物学研究を化学、物理学、ロボット工学、材料科学、コンピュータ・サイエンス、数学などの他の分野と統合することが必要であろう。

重要事項: 統合研究は新しい技術的結果同様基礎生物学へ新しい知見を提供するであろう。

結論: 新しく登場したバイオデンタル・エンジニアリング分野は、将来の歯科科学研究を促進する巨大な潜在能力をもった統合研究の一例である。

Translational Dental Research over the CCN family

Metalloproteases and CCN2/CTGF in dentin-pulp complex repair

Koichiro Muromachi, Naoto Kamio, Miwako Matsuki-Fukushima, Takanori Narita, Hitoshi Nishimura, Nobuyuki Tani-Ishii, Hiroshi Sugiya, Kiyoshi Matsushima

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1349007914001261>

背景: メタロプロテアーゼは歯髄における細胞外マトリックス・リモデリングに関与する触媒酵素であると広く考えられている。しかしながら、細胞はマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP)-2、MMP-3、MMP-9、MMP-13 などのいくつかのメタロプロテアーゼを包含している。最近、MMP-3 が抗炎症および再生因子として歯髄治癒を媒介することが示された。

重要事項: 我々の過去の研究は、MMP-3 が細胞遊走を刺激することを示した。これは、ヒト歯髄細胞における CCN ファミリーメンバー2/結合組織成長因子 (CCN2/CTGF) 発現と分泌を介して起こり、この過程はダイナミン関連エンドサイトーシスに依存し、タンパク質分解酵素活性には依存しない。さらに我々は、アスタシン・メタロプロテアーゼファミリーのメンバーである骨形成タンパク質 (BMP)-1 が CCN2/CTGF 発現を介した修復象牙質形成にある役割を果たすことを明らかにした。これらの結果は、歯髄での CCN2/CTGF 発現に必要なシグナルカスケードの活性化におけるメタロプロテアーゼの新しい役割を示唆している。

結論: 本レビューでは、細胞遊走の調節と第三象牙質形成過程における CCN2/CTGF 発現の効果を特に強調し、象牙質・歯髄複合体修復におけるメタロプロテアーゼ、特に MMP-3 と BMP-1 の新しい役割を要約する。

Microbiology

The interplay between iron, haem and manganese in *Porphyromonas gingivalis*

Catherine A. Butler, Stuart G. Dashper, Hasnah S.G. Khan, Lianyi Zhang, Eric C. Reynolds

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1349007914001285>

背景: 鉄やマンガンなどの遷移金属は電子を供与・受け取る能力のために生命に必須である。すべてのタンパク質のほぼ三分の一が触媒的・構造的・調節機能の実行に必須遷移金属イオンを必要としている。これらの必須金属イオンは、有毒な反応酸素種の形成に直接関与するイオンと共に別々に酸素ラジカルの存在と反応するが、マンガンは酸化ストレスから保護する。

重要事項: 嫌気性菌種は遷移金属ホメオスターシスに関しては十分に研究されてなく、好気性菌種や耐気性菌種と比較して多くの点で異なるふるまいをする。異化反応を最適化する一方で自らを好まない反応から保護するために、細菌は、環境に依存して、非常に狭い範囲で可変する細胞内金属レベルを維持しなければならない。金属イオンホメオスターシスの維持のために、細菌は、金属の取り込み、分泌、貯蔵の複雑な調節メカニズムを進化させてきた。本レビューでは、いかにイオン、ヘム、マンガン利用能が嫌気性グラム陰性菌周病原性細菌 *ポルフィロモナス・ジンジバリス* のライフスタイルや病原性を規定しているかを考察する。

結論: *P. ジンジバリス* は、エネルギー効率のよいイオン依存性病原性期と保護的マンガン依存性生存期の間を素早く切り替えることを可能にしている新しいヘム、イオン、マンガン輸送体と金属調節タンパク質をもつ。

Salivary Glands

Functional roles of V-ATPase in the salivary gland

Yoshinori Sahara, Sawa Horie, Hideyuki Fukami, Naomi Goto-Matsumoto, Mayumi Nakanishi-Matsui

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S134900791400125X>

背景: 空胞型 H⁺-ATPase (V-ATPase) が、真核細胞の空胞、ライソゾーム、シナプス小胞、エンドゾーム、分泌顆粒、ゴルジ装置などの細胞内小器官の酸性化に関与することが研究により明らかになっている。V-ATPase はまた上皮細胞の細胞膜を通してプロトン輸送の媒介にも関与する。さらに、V-ATPase は、サイトゾルからエンドゾーム膜への小胞輸送に重要な小胞被覆成分を動員することで、酸性 pH を感じ、反応する。V-ATPase の機能は不明であるが、V-ATPase mRNA とタンパク質が RT-PCR 法、ウエスタンブロット法、免疫組織化学で検出されている。

重要事項: 本レビューは V-ATPase の局在と機能的役割の現在の理解を明らかにし、唾液腺でこの酵素がどのように調節されているのかを考察することを目的としている。

結論: V-ATPase の免疫活性が種および腺特異的分布をもつ導管細胞に限局していること、V-ATPase の異なるサブユニット・アイソフォームが様々な細胞内の場所を標的にすることに関与しうることを明らかにする研究が増えている。唾液腺導管上皮細胞の主要な機能が Na⁺ と Cl⁻ の再吸収と K⁺ と HCO₃⁻ の分泌であることを考慮すると、V-ATPase は主に細胞膜を通過して細胞から外へのプロトンの輸送、または区画の酸性化に機能することがあり、結果として流体と電解質輸送を修飾することとなる。

Original Articles

The Front Line of Research on Oral Microbiota

Microbiota profiling of bronchial fluids of elderly patients with pulmonary carcinoma

Naoko Ishida, Takuichi Sato, Yasushi Hoshikawa, Naoko Tanda, Keiichi Sasaki, Takashi Kondo, Nobuhiro Takahashi

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1349007914001248>

目的: 不顕性誤嚥に関与する細菌の供給源は完全には明らかにされていない。本研究は、高齢患者の口腔細菌の不顕性誤嚥に関する信頼できる証拠を得ることを目的とした。

方法: インフォームド・コンセントを得た後に、患者の咳と嚥下反射を評価した。肺切除術を受ける患者の気管支液をマイクロ・サンプリング・プローブで採取し、不顕性誤嚥の程度を評価するために気管支液の α アミラーゼ活性を測定した。気管支液を血液寒天平板の上で好気的および嫌気的に培養し、コロニーを 16S rRNA 遺伝子配列決定により同定した。加えて、全唾液の細菌量と構成を解析した。

結果: 6 人の患者 (72.2 ± 5.8 歳) が嚥下反射低下を示し、5 人 (75.4 ± 7.9 歳) が正常な嚥下反射を示した一方で、全ての患者が正常な咳反射を示した。 α アミラーゼ活性は低下および正常の反射群双方の気管支液で検出された。反射低下群の気管支液の嫌気培養による細菌量 [$(3.0 \pm 3.5) \times 10^4$] は、有意ではないものの、正常反射群の量 [$(2.5 \pm 5.3) \times 10^4$] より高かった。*Actinomyces* (アクチノミセス)、*Gemella* (ゲメラ)、*Streptococcus* (レンサ球菌)、*Rothia* (ロシア)、*Mogibacterium* (モギバクテリウム)、*Campylobacter* (カンピロバクター) が反射低下群の気管支液の優勢細菌種であったが、*Streptococcus* (レンサ球菌)、*Lactobacillus* (ラクトバチルス)、*Veillonella* (ベイヨネラ)、*Actinomyces* (アクチノミセス) が正常反射群で優勢であった。

結論: 我々の結果は、不顕性誤嚥に関与する気管支液の細菌が唾液から由来し、嚥下反射低下をもつ高齢患者の気管支液が特徴的な細菌叢をもつことを示唆している。

Bone Biology

Oral mucosal fibroblasts overexpressing BMP-2 differentiate into osteoblasts and participate in new bone formation during bone regeneration

Zayar Lin, Tadahiro Iimura, Shohei Kasugai, Akira Yamaguchi

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1349007915000195>

目的: 骨誘導因子を発現する非骨原性細胞の移植は、細胞性骨再生療法の可能性のある方略である。本研究で、我々はヒト骨形成タンパク質 (BMP-2) を過剰発現するイヌ口腔粘膜線維芽細胞 (COFs) の移植が骨再生に及ぼす効果を研究した。

方法: イヌ頬粘膜から単離した COFs がエレクトロポレーションにより BMP-2 を含む pCEP4 または pcDNA ベクターで遺伝子導入された。骨芽細胞分化への BMP-2 の効果が、BMP-2 過剰発現 COFs におけるアルカリ性フォスファターゼ (ALP) 活性と Osterix および Runx2 発現を測定することで評価された。BMP-2 過剰発現 COFs が胸腺欠損マウスの頭蓋に造られた骨欠損に移植された。骨再生は μ CT 解析と組織学的検査により評価された。移植された細胞の運命は、BMP-2 と同時導入された緑色蛍光タンパク質 (GFP) の発現をモニターし組織切片上で追跡された。

結果: pcDNA-BMP2 または pCEP4-BMP2 による遺伝子導入は、ALP 陽性細胞の数と Runx2 および Osterix mRNA 発現レベルを増加させた。 μ CT と組織学解析は、pCEP4-BMP2 または pcDNA-BMP2 で遺伝子導入した COFs の移植が頭蓋骨欠損の再生を誘導したことを明らかにした一方で、コントロール pCEP4 や pcDNA プラスミドで遺伝子導入した COFs は骨再生まで達しなかった。GFP 発現を追跡する組織学的実験は、pCEP4-BMP2 または pcDNA-BMP2 で遺伝子導入した COFs が再生している骨領域で骨芽細胞や骨細胞に分化したことを明らかにした。

結論: BMP-2 を過剰発現した移植 COFs は骨再生過程において骨芽細胞や骨細胞に分化し、新しい骨形成に参加した。

Pulp Biology

The effects of enzymatically synthesized glycogen on the pulpal healing process of extracted teeth following intentionally delayed replantation in mice

目的: グルコースの取り込みは、初期の歯の形態形成と大きさの決定に重要な役割を果たす。最近、天然グリコーゲン(グルコースの主要な貯蔵型)の特徴をもつ酵素合成グリコーゲン(ESG)が開発された。本研究は、マウスにおける意図的歯の遅延再植後の歯髄治癒過程における ESG の効果を明らかにすることを目的とした。

方法: 上顎第 1 臼歯を抜去、リン酸緩衝食塩水(PBS)または ESG(5,000 キロダルトン)溶液(1 mg/mL)に 60 分間浸漬後再植した。(ネスチン、オステオポンチン、Ki-67 に対する)免疫組織化学、TUNEL 評価、RT-PCR 法が異なる時点で行われた。

結果: 両群共に術後 7 日で歯髄のアポトーシスが增加したが、PBS 群術後 14 日で活発な細胞増殖、21 日で第三象牙質形成および/または骨様組織沈着が続いた。一方、ESG 群術後 10 日周囲で活発な細胞増殖と歯冠部のネスチン陽性反応、14 日で硬組織沈着が観察された。象牙質シアロリントタンパク質とネスチン mRNA は ESG 群術後 5 日で最初に再発現したが、両群共に術後 3 日から *Cd11c* 同様アルカリ性フォスファターゼとオステオポンチン mRNA が増加傾向を示し、ESG 群で特に術後 1 日で幹細胞マーカーであるオクタマー結合タンパク質 *Oct3/4* mRNA が大きく増強された。

結論: ESG と PBS 共に骨様組織形成を誘導することがあるが、ESG は意図的歯の遅延再植後の歯髄の治癒過程を改善した。

※ ご意見・ご希望は編集委員会にお問い合わせ下さい(宛先: 大島 histoman@dent.niigata-u.ac.jp)。翻訳の間違い等のご指摘頂けると幸いです。