

座長／濱田 賢一(生体材料工学分野)

5 16:25~17:05 ヒト口腔粘膜線維芽細胞由来iPS細胞の樹立

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 発達予防医歯学部門 健康長寿歯科学講座 分子医化学分野 三好 圭子

iPS細胞 (induced Pluripotent Stem cells) は、リプログラミング遺伝子を導入または誘導することにより作製できる。これによりあらゆる体細胞を未分化多能性幹細胞にすることができるため、再生医療の細胞源として注目されている。iPS細胞の樹立法については、がん化のリスク等を回避するため、リプログラミング遺伝子の導入方法や、遺伝子導入を伴わない化学物質を用いた方法など、世界中で開発が加速している。

ヒトiPS細胞の細胞源に関してはこれまでに、皮膚線維芽細胞、ケラチノサイト、骨髓間葉幹細胞、臍帯血、毛、脂肪幹細胞、神経幹細胞、そして歯（歯髄等）などから樹立できたという報告がある。

iPS細胞を用いた再生医療を目指すとき、その供給源は1) 患者以外から採取した細胞により作製されたiPS細胞バンク、または2) 患者本人から採取した細胞を用いて作製したiPS細胞、

が考えられる。

私たちは後者のオーダーメード医療への対応を目指し、簡便かつ安全に個人から得る細胞源として口腔粘膜を選択した。今回、ボランティアから採取した口腔粘膜組織から線維芽細胞を培養し、これをiPS化することに初めて成功したので報告する。口腔粘膜は皮膚に比べ外見を損なわず、簡単に採取できる上に治癒が早いことが大きな利点である。口腔粘膜線維芽細胞由来iPS細胞はES細胞様の細胞形態を示し、アルカリホスファターゼ染色陽性、OCT4, NANOG等の未分化マーカー陽性であった。この細胞は胚葉体形成能を有し、*in vitro*で三胚葉系細胞に分化した。また樹立したiPS細胞をマウス精巣に移植すると、テラトーマを形成し、三胚葉系に分化した。口腔粘膜線維芽細胞由来iPS細胞は、これからのオーダーメード再生医療の細胞源として大変有用であると考える。

■プロフィール

1994年 徳島大学歯学部歯学科卒業／1998年 徳島大学大学院歯学研究科修了／1998年 徳島大学歯学部助手（口腔生化学講座）／1999-2001年 米国国立衛生研究所（NIDDK/NIH）留学／2004年 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部助手／2006年 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部講師

6 17:10~17:30

歯科における再生工学の現状と課題：
口蓋裂と歯周病の再生医療および歯の再生へ向けて

広島大学大学院医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻探索医科学講座 加藤 幸夫

幹細胞、成長因子、足場（細胞外基質）は、発生の三要素であり、したがって再生工学の三要素でもある。これらについての研究は最近になって急速に進んだ。例えば間葉系幹細胞、PDGF, BMPを用いる再生医療が実現している。また他の幹細胞や成長因子（FGF, BDNFなど）の利用した再生医療も検討されている。さらにシグナル伝達に関する知識も増えてきた。一方、足場については、生体吸着性、強度、細胞接着性などを十分にコントロールできるような素材は未だ少ない。

一方、再生工学には発生学とは別の課題がある。細胞医療の実施には、組織からの幹細胞分離、細胞培養、移植用細胞の品質検査、簡便な手術法などが必要である。幹細胞の培養系で血清が存在すると、治療効果のバラツキや感染リスクの問題がある。さらにES/iPS細胞を使用するには癌化リスクの問題がある。これらの課題を解決するには、単なる試行錯誤だけでなく、再生医療の開発過程全体を、ある特定の現実的

な考え方のもとで、システム化するべきかもしれない。再生医療の事業化では、現実的なシステムとして再生医療を実施することがとくに重要である。なお本シンポジウムでは我々の無血清培地STKについても紹介する。

歯科の臨床で、再生工学は将来大きな役割を果たすと期待される。たとえば細胞レベルでマウスの歯芽を再構成して移植することにより機能的な歯を萌出させることができている。歯科での再生医療には、口腔独特の問題（咀嚼などで移植体が安定せず感染しやすいなど）があるものの、これまでの研究の流れから、口蓋裂と歯周病の細胞治療/成長因子治療、歯科用インプラント埋入用の顎骨再建のための細胞治療は現実的な治療法のひとつとなりつつある。そして試験管内で再構成した歯芽による再生歯科医療も道筋が見えつつある。したがって再生工学の三要素や再生医療技術に関する研究は、今後さらに活発に進めていくべきである。

■プロフィール

1973年 大阪大学歯学部卒業／1977年 大阪大学大学院歯学研究科修了／1977年 大阪大学歯学部助手／1982-1984年 UCSF、ロックフェラー大学に留学／1990年 大阪大学歯学部助教授／1991年 広島大学歯学部教授／2004年 株式会社ツーセル取締役（研究開発担当）兼任

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部（歯学系）

口腔QOL連続シンポジウム

in Tokushima 2009-2010



その2 「再生工学カテゴリー」

発生プロセスを踏まえた
組織再生の可能性と課題

日時 平成22年1月22日(金) 13時00分～17時35分

会場 徳島大学歯学部 4階 大講義室（蔵本キャンパス）

シンポジウム

13:00～13:05	開会の挨拶	（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 研究部長 林 良夫）
1 13:05～13:45	マウス胎児頭蓋冠骨発生研究から骨再生の応用への可能性	（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 分子発生学分野 井関 祥子）
2 13:50～14:30	網膜の形態形成のメカニズム解明から網膜再生へ	（徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部ライフシステム部門 生命機能工学講座 大内 淑代）
3 14:35～15:15	歯のかたちづくりの分子制御	（東北大学大学院歯学研究科 口腔保健発育学講座 小児発達歯科学分野 福本 敏）
15:15～15:40	休憩	
4 15:40～16:20	歯髄幹細胞を用いた歯髄の再生	（国立長寿医療センター研究所 口腔疾患研究部 口腔機能再生研究室 中島美砂子）
5 16:25～17:05	ヒト口腔粘膜線維芽細胞由来iPS細胞の樹立	（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部発達予防医歯学部門 健康長寿歯科学講座 分子医化学分野 三好 圭子）
6 17:10～17:30	歯科における再生工学の現状と課題： 口蓋裂と歯周病の再生医療および歯の再生へ向けて	（広島大学大学院医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻探索医科学講座 加藤 幸夫）
17:30～	閉会の挨拶	（シンポジウム司会者 野間 隆文）

* 交流会：東急イン1階「シャングリ・ラ」にて開催予定

※本シンポジウムは、各教育部の
大学院講義を兼ねています。

主 催：徳島大学ヘルスバイオサイエンス研究部（歯学系）

後 援：四国歯学会

問合せ：徳島大学大学院HBS研究部 分子医化学分野 野間 隆文

〒770-8504 徳島市蔵本町3-18-15

TEL：088-633-7326（内線5217）

その3 平成22年2月22日(月) 「咀嚼・嚥下機構力カテゴリー」口腔機能と他機能の関連と相反(仮)

座長／赤松 徹也(口腔分子生理学分野)

1 13:05~13:45 マウス胎児頭蓋冠骨発生研究から骨再生の応用への可能性

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子発生学分野 井関 祥子

頭蓋縫合早期癒合症、軟骨低形成症の原因となる変異が、線維芽細胞増殖因子（FGF）受容体に発見され、FGFシグナルの骨格形成への関与が明らかとなった。我々は、リガンドであるFGFに着目し、FGFの骨形成に対する作用について検討を行っている。In vitroにある骨芽細胞に対して、FGFは主として細胞増殖活性のみを示すことから、我々は膜性骨化によって発生するマウス胎児頭蓋冠を用いてin vivoで検討を行っている。マウス胎児頭蓋冠の冠状縫合部は、発生中である神経堤由来の前頭骨と中胚葉由来の外周部分がオーバーラップし、その間に縫合となる線維性組織が存在する部位である。その冠状縫合部にFGF溶液に浸漬したビーズを、子宮外胎児手術法を用いて作用させ、変化について検討している。22種

■参考文献

- Yoshida T., Vivatbuttsiri P., Morrissey G., Saga Y., and Iseki S. (2008) Cell lineage in mammalian craniofacial mesenchyme. *Mech. Dev.* 125, 797-808.
- McBratney-Owen B., Iseki S., Bamforth S.D. Olsen B.R. and Morrissey G.M. (2008) Development and tissue origins of the mammalian cranial base. *Dev. Biol.* 322, 121-132.
- Harada M., Murakami H., Okawa A., Okimoto N., Hiraoka S., Nakahara T., Akasaka R., Shiraishi Y., Futatsugi N., Mizutani-Koseki Y., Kuroiwa A., Shirouzu M., Yokoyama S., Taiji M., Iseki S., Ornitz D.M. and Koseki H. (2009) FGF9 monomer/dimer equilibrium regulates extracellular matrix affinity and tissue diffusion. *Nat. Genet.* 41 (3) 289-298.

■プロフィール

1989年 東京医科歯科大学歯学部卒業／1993年 東京医科歯科大学歯学研究科博士課程修了／1993年 東京医科歯科大学助手／1994年 徳島大学助手／1994年 英国オックスフォード大学解剖学講座留学／1997年 東京医科歯科大学助手／2008年 東京医科歯科大学教授

2 13:50~14:30 網膜の形態形成のメカニズム解明から網膜再生へ

徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部ライフシステム部門 生命機能工学講座 大内 淑代

脊椎動物の網膜は、多様なニューロン系細胞（神経節細胞、アマクリン細胞、双極細胞、水平細胞、視細胞）とMullerグリア細胞からなり、光受容と光情報の一次処理を行う神経感覚組織である。近年、様々な幹細胞から網膜細胞を分化させることができるようにになり、網膜色素変性症や黄斑変性症などの網膜疾患によって廃絶した網膜を機能的に再生させることも近い将来可能になると考えられている。しかし、効率のよい分化方法や、視細胞以外の網膜細胞の分化方法については未解明な点が多く、網膜細胞の発生分化のしくみを分子レベルで明らかにすることが益々重要になっている。

我々は、網膜の特定の細胞集団に発現する光受容関連タンパク質や細胞外シグナル分子、転写因子に着目してその役割を調べている。例えば、線維芽細胞増殖因子（FGF）遺伝子の1つであるFgf19は、発生初期の網膜水平細胞に発現し、発生後期には軸索をもつH1サブタイプの水平細胞に発現する。本講演では、網膜細胞分化におけるFgf19の役割を解析する過程で新しく見出した、Fgf19の発現に関与する因子の眼胞の初期パターン形成における役割について紹介する。

■参考文献

- Subtype-specific expression of Fgf19 during horizontal cell development of the chicken retina. Okamoto M., Bito T., Noji S., Ohuchi H. *Gene Expr. Patterns* 9(5):306-313, 2009.
- Introduction of silencing-inducing transgene against Fgf19 does not affect expression of Tbx5 and beta3-tubulin in the developing chicken retina. Okamoto M., Tomonari S., Naito Y., Saigo K., Noji S., Utei K., Ohuchi H. *Dev. Growth Differ.* 50(3):159-168, 2008.

■プロフィール

1989年 岡山大学医学部卒業／1993年 同大学院医学研究科修了／1993年 徳島大学工学部生物工学科助手／1997年 米国コネル大学医学部解剖学細胞生物学教室留学／1998年 京都大学大学院薬学研究科助教授／2000年 徳島大学工学部生物工学科助教授／2006年 徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部准教授／専門は発生工学

座長／大石 慶二(歯周歯内治療学分野)

3 14:35~15:15 歯のかたちづくりの分子制御

東北大学大学院歯学研究科口腔保健発育学講座小児発達歯科学分野 福本 敏

類あるFGFの中で、使用される頻度が高いFGF2を作用させた場合、一部の骨芽細胞の分化マーカーの発現レベルが骨ドメインや皮下結合組織で高くなつたが、石灰化は阻害された。一方、欠失マウスの表現型から骨芽細胞の増殖や分化に機能していると報告されているFGF18を作用させると、骨芽細胞分化マーカー発現レベルの上昇とともに骨ドメインの成長が促進され、それに伴う石灰化も観察された。これより、骨芽細胞分化に対する機能はFGFによって異なることが明らかとなつた。現在、リガンドと受容体の親和性を考慮しながら、他のFGFの効果、および骨芽細胞分化に対する異なる作用のメカニズムについて検討している。

歯のかたちは、口腔上皮と歯原性間葉細胞の相互作用によって決定づけられる。臨床的には、歯の発生の初期段階（開始期あるいは増殖期）の異常により、歯の先天欠如や矮小歯などの歯の形成異常を生じる。エナメル質の形成自身も歯の形態形成に重要な要素であることから、当初エナメルマトリックスの発現制御機構について解析を進めてきた。エナメルマトリックス（アメロジェニン、エナメリン、アメロプラスチン等）は、エナメル芽細胞そのものの分化制御や、ハイドロキシアパタイトの結晶化に重要な役割を演じている。その中で、アメロプラスチンはエナメル芽細胞の極性決定、増殖抑制、さらにはアメロジェニンの発現制御にかわり、多彩な生物活性を有していることが明らかとなってきた。歯胚発生の初期では、歯原性上皮細胞は、分化の過程で基底膜の支持をうけ、歯胚形成を行っていく。しかしながら歯原性上皮細胞がエナメル芽細胞に分化し、エナメルマトリックスを分泌

■プロフィール

1994年 長崎大学歯学部卒業／1994年 長崎大学歯学部小児歯科学講座助手／1997年 長崎大学大学院歯学研究科入学／1998年 日本学術振興会特別研究員／2000年 長崎大学大学院歯学研究科博士課程修了／2000年 長崎大学歯学部小児歯科学講座助手／2000年 米国国立衛生研究所（NIDCR/NIH）客員研究員／2003年 長崎大学歯学部附属病院小児歯科講師／2004年 九州大学大学院歯学研究科助教授（小児口腔医学分野）／2007年 東北大学大学院歯学研究科教授（小児発達歯科学分野）

4 15:40~16:20 歯髄幹細胞を用いた歯髄の再生

国立長寿医療センター研究所 口腔疾患研究部 口腔機能再生研究室 中島 美砂子

象牙質・歯髄再生においては血管新生・神経再生を考慮する必要がある。私どもは、多分化能、高い遊走能、増殖能を有する歯髄CD31⁺/CD146⁻ SP細胞を分取した。この細胞を下肢虚血部モデルに移植すると、血流の回復ならびに血管新生促進作用がみられた。この細胞は虚血部位において血管内皮細胞へ分化して組み込まれるのではなく、新生血管周間に集積し種々の前血管因子を発現していた。この細胞の培養上清は血管内皮細胞の増殖促進、抗アポトーシス効果を有していた。よって、下肢虚血部においてはバラクリン的に血管新生を促進している可能性が示唆された¹。一方、この細胞を脳梗塞モデルに移植すると、梗塞部周囲に集積し、神経栄養因子を高発現し、神経細胞の分化促進作用がみられた。この細胞の培養上清は神経前駆細胞の遊走・増殖を促進し、アポトーシスを抑制した。また、細胞移植により運動麻痺の劇的回復がみ

■参考文献

- Iohara K. et al., *Stem Cells* 26(9): 2408-2418, 2008.
- Sugiyama M. et al., *Stroke* 投稿中
- Iohara K. et al., *Regenerative Medicine* 4(3): 377-385, 2009.
- Nakashima M. et al., *Cytokine & Growth Factor Reviews* 20:435-440, 2009.

■プロフィール

1984年 九州大学歯学部歯学科卒業／1988年 九州大学大学院歯学研究科修了（歯学博士）／1988年 九州大学歯学部歯科保存学第二講座助手／1991年 文部省若手在外研究員（米国国立衛生研究所（NIH, NIDR）留学）／1995年 文部省国際共同研究（ジョンズホプキンス大学留学）／1997年 文部省国際共同研究（ニューヨーク大学留学）／1999年 九州大学大学院歯学研究科口腔機能修復学講座助手／2005年 国立長寿医療センター研究所口腔疾患研究部室長／専門は再生歯科学、歯内治療学