

# 鹿児島大学歯学部紀要

Annals of Kagoshima University Dental School

Volume 22

2002

— 目 次 —

若年者の顎関節機能障害の発症頻度と個人内症状の経年的変動について .....	小 椋 正	1
合成アパタイトが生み出す新しい歯科生体材料 .....	伴 清 治	7
酸化ストレス及び放射線障害における細胞内ミトコンドリアの役割 ...	馬 嶋 秀 行	15
破骨細胞と関連病変 .....	仙 波 伊知郎	25
エナメル質形成の細胞生物学 .....	田 畑 純	33
2000年鹿児島大学歯学部 SCI 発表論文リスト .....		43

鹿 歯 紀

Ann. Kagoshima Dent.

# 鹿児島大学歯学部紀要投稿規定

1. 本誌は歯科医学の研究や教育に関して特定のテーマに基づき、総説あるいは啓蒙的・解説的な論文を主体に掲載する。本学部の教官は下記の規定に従い、誰でも投稿することが出来る。投稿論文の採否は、編集委員会が決定する。
  2. 本誌は年1回発行する。
  3. 論文の掲載は受理の順とする。ただし編集委員会より特に依頼した原稿については、別に委員会が定める。
  4. 掲載料は無料とし、別刷50部を贈呈する。
  5. 和文原稿はA4版またはB5版400字詰め原稿用紙を用いて書き、英文原稿はA4版用紙に10ピッチ、ダブルスペースでタイプする。別にコピー部をつける。原稿をワープロで作成した場合は、フロッピーディスクをつける。
  6. 表紙（原稿第一枚目）には、1)表題、2)著者名、3)所属、4)欄外見出し（和文25字以内）、5)図表の数、6)原稿の枚数、7)別刷請求部数（朱書）、8)編集者への希望などを書く。
  7. 英文抄録（Abstract）をつけ、その表紙には、1)タイトル、2)著者名、3)所属、4)Key words（5words以内）、5)抄録本文はA4版タイプ用紙で250語以内とする。
  8. 和文中の外国文字はタイプとし、和綴りにするときは片かなとする。イタリック指定をしたいところは、アンダーラインを引きその下にイタリックと書く。動物名などは原則として片かなを用いる。単位及び単位記号は、国際単位系による。
  9. 本文の欄外に赤字で図表を挿入すべき位置を指定する。
  10. 項目分は、I, II, ……さらにA, B ……さらに1, 2 ……さらにa, b ……というように分ける。
  11. 文献表の作り方
    - 1) 本文中に文献を引用するときは文中の該当する箇所または著者名の右肩の引用の順に従って、番号を付ける。3人以上連名の場合は、“ら”または“et al.”を用いる。

例1：前田ら<sup>3)</sup>によれば……  
例2：Hodgkin & Huxley<sup>2)</sup>によれば……
    - 2) 末尾文献表は引用の順に整理し、本文中の番号と照合する。著者名は、et al.と略さず全員を掲げる。
  - 3) 雑誌は著者：表題、雑誌名、巻、頁（始—終）、西暦年号の順に記す。

例1：3) 前田敏宏、渡辺 武、水野 介、大友信也：B型肝炎ウイルスに対するモノクローナル抗体。細胞工学, 1, 39-42, 1982  
例2：1) Hodgkin, A. L. & Huxley, A. F. : The components of membrane conductance in the giant axon of *Loligo*. J. Physiol. (Lond.), 116, 473-496, 1952
  - 4) 単行本は著者名、書名、版数、編集名、章名、引用頁、発行所、その所在地の順に記す。論文集などの場合は雑誌に準じるが、著者名：章名、書名、版数、編集名、引用頁、発行所、所在地、西暦年号の順に記す。

例1：金子章道：視覚；感覚と神経系（岩波講座現代生物化学8）、初版、伊藤正男編、38-57、岩波書店、東京、1974  
例2：McElligott, J. G. : Chap 13, Long-term spontaneous activity of individual cerebellar neurons in the awake and unrestrained cat., In; Brain Unit Activity during Behavior, 1st ed., M. I. Phillips, Ed., 197-223, Charles C. Thomas, Spring-field, 1973
  - 5) 孫引きの場合は原典とそれを引用した文献及びその引用頁を明らかにし、“より引用”と明記する。
  - 6) 雑誌名の省略名は雑誌により決めてあるものについてはそれに従い、決めてないものについては日本自然科学雑誌総覧（1969、日本医学図書館協会編、学術出版会）またはIndex Medicusによる。これらにないものについては、国際標準化機構の取り決めISO R4（ドクメンテーションハンドブック、1967、文部省、大学学術局編、東京電気大学出版局、39-42頁参照）に従う。
12. その他  
集会などの内容紹介、海外だより、ニュース、討論、意見、書評、随筆など歯科医学または歯科医学者に関係あるあらゆる投稿を歓迎する。全て図表、写真などを含めて400字詰め原稿用紙5枚以内にまとめる。但し、採否は編集委員会が決定する。

## 編集委員

小 椋 正 笠 原 恭 夫  
長 岡 英 一 西 川 殷 維  
(50音順)

# 若年者の顎関節機能障害の発症頻度と個人内症状の経年的変動について

小椋 正

鹿児島大学歯学部小児歯科学講座

## I. はじめに

私は鹿児島大学歯学部紀要の第4巻に顎関節機能障害の原因論の変遷を書いた。それから約20年が経過し再び顎関節機能障害について我々が調査して分った事について書くつもりである。

その前に顎関節機能障害に関する現在の状況を簡単に説明する。アメリカで矯正治療のために顎関節機能障害になったとの訴訟が1980年代後半に持ち上がった。米国の歯科医師会や矯正学会なども放置することが出来ず、顎関節機能障害に関する組織的な見直しが始まり、いくつかの報告を見ることが出来る。それが切っ掛けになったのか、NIHの歯科部門が2年に一回大々的なワークショップやカンファランスを行って顎関節機能障害の原因の究明や治療法がEBM (Evidence based medicine) の概念に沿ったものかどうかの論争を行っている。

その結果現在最も確からしいことは、顎関節機能障害の原因はまだ解らないものの、咬合異常とストレスが顎関節機能障害の増悪因子として働き、悪循環を作り出すのだと考えるのが妥当なのではないかと考えられている。

## II. 顎関節機能障害の調査方法による発症頻度の差について

顎関節機能障害の発症頻度は、調査対象、調査方法により差が出ることを Okeson<sup>1)</sup>は報告している。発育期の顎関節機能障害の39の論文を総説した Okeson<sup>1)</sup>によると、症状 (Symptom) を使用した発症頻度の研究報告で20~74%の範囲のバラツキを示した。徴候 (Signs) による発症頻度の報告では22~68%の範囲であった。この発症頻度の差は、研究に採用する症状と徴候の違いのためだと考えられる。すなわち、顎関節雑音、顎関節部疼痛、開口障害の三大症状の他に、異

常顎運動である顎偏位の抽出基準や頭痛の評価基準、ならびに歯キシリや噛みしめなどの口腔習癖をどう評価したかの違いによる。頭痛を例にとれば、頭痛は感染症、脳血管障害、頭蓋内腫瘍、中毒 (一酸化炭素など)、頭部外傷、目・鼻・頭頸部疾患などのほか過労、不安、緊張などの精神的要因でも起き、それらを短時間で (疫学調査) 鑑別診断をすることは難しい。また、対象が外来患者か一般集団であるか、年齢や男女差などによっても発症頻度は違いが出る。それゆえ、発育期の一般集団を対象とした顎関節機能障害の発症頻度の報告<sup>2~4)</sup>には差があるのは当然と言える。顎関節機能障害の発症頻度は、同一の調査者が同一の対象者を診査しても、その使用する方法の違いによっても差が出ることを森主ら<sup>5)</sup>は報告している。すなわち、東京都内の4校の高校生1,343名を対象に、アンケート調査法、個別面接調査法 (いわゆるインタビュー調査) および臨床検査調査法の3つの調査方法による顎関節機能障害の発症頻度の差についての検討を行っている。3つの調査方法による顎関節機能障害の発症頻度は、インタビュー法23.5%、アンケート法20.6%、臨床検査法17.4%の順に高頻度を示した。臨床検査法とインタビュー法の間には5%の危険率で有意差があった。(表1参照)

表1 調査方法別、学校別、性別顎関節機能障害の発症頻度 (%)

学 校	アンケート		インタビュー		臨床検査	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
S 高校	19.9	18.1	19.9	22.3	14.0	18.6
T 高校	17.2	17.7	19.0	22.3	15.3	16.3
K 工業	24.3	……	26.1	……	……	17.7
I 商業	……	26.8	……	32.9	……	22.8
合 計	20.1	21.1	21.4	25.9	15.7	19.4
男女合計	20.6		23.5		17.4	

文献5) より引用

以上3つの調査方法の結果では、他の方法と比較してインタビュー法が高頻度を示した。その理由は、インタビュー法が、質問者が用意周到な質問を作成し、客観的に必要とする回答を得ようとする手法である。しかし、多くの対象者を短時間に調査実施する場合、質問者の質問状況にゆとりがなくなり、質問者の好む方向に回答を誘導する状況が生じやすくなる<sup>6)</sup>ためと考えられる。アンケート調査法は、自己判断による申告のため各個人の顎関節機能障害に対する感受性が回答に反映される恐れがある。また、著者らの研究<sup>5)</sup>ではアンケートの調査時点に限定する質問表現であったにもかかわらず、既往までも含めた回答であったため、臨床診査より高頻度を示したと考えられた。3つの調査方法の各症状の有無の関係から、インタビュー法の顎関節機能障害の発症頻度が、false positiveを示す調査方法であることが解った。

Ⅲ. 若年性顎関節機能障害の8年後の発症頻度の差について

顎関節機能障害の好発年齢はかつて20才代と言われていた<sup>7-9)</sup>が、初発期は10代前半であり、思春期に発症する傾向が著者ら<sup>2)</sup>の思春期顎関節機能障害の発症頻度の疫学調査(1984年4月～7月の調査)で示されている。

疫学調査における顎関節機能障害の3大症状の診査方法は次のようである。顎関節雑音はクリック音と捻髪音を頬骨弓部において聴診器を用いて聴取し、その有無により判定した。開口障害は、開口させた時に障害の訴えの有無により判定し、その際疼痛を伴っているか否かを記録した。顎関節部疼痛については対象者に下顎運動をさせ、運動時疼痛とKrogh-Poulsenの方法<sup>10)</sup>により、咀嚼筋群の触診痛の有無により判定し、1つでも疼痛の認められたものは疼痛ありと判定した。

以上のような診査を行い、顎関節機能障害の3大症状である顎関節雑音、顎関節部疼痛および開口障害のいずれか1つ以上ある場合を顎関節機能障害が有る者とした。調査は、図1に示した項目を、調査方法を十分に打ち合わせた4名の歯科医によって行われた。

著者らの顎関節機能障害の一般小児を対象とした発症頻度は、表2に示すように小学生2.0%、中学生8.1%、高校生12.0%と年齢と共に増加していた。

3大症状の発症頻度を症状別にした値を表3に示した。それによると顎関節雑音は小学生1.3%と少なく、中学生6.7%、高校生10.7%と年齢が上がるに従って増加していた。なお、性差は認められなかった。顎関

年 組 番 氏名 ( ) 男・女  
生年月日 昭和 年 月 日生、 歳 か月

1. 顎関節雑音	-・+ (右・左)
2. 異常顎運動 (1) 開口運動時の偏位 (注) 大2mm以上, 小2mm以下	-・+ (小・大) (右・左・左右)
(2) 開口時の切歯路のタイプ (1)で+であった者のみ (a) (b) (c) <small>(階段型) (斜走型) (-過性咬合型)</small>	a・b・c
3. 開口度	最大(有痛) ( )mm 無痛 ( )mm
4. 疼痛 (1) 下顎運動時の疼痛 ..... 1回運動時の疼痛回数	-・+ ( )回
(2) 顎関節部 ①触診痛	-・+
②側方に触診痛	-・+
③後方に触診痛	-・+
(3) 咀嚼筋 (他覚的) 触診	1: 咬筋浅部起始 2: 咬筋浅部中央 3: 咬筋深部 4: 顎関節外側 5: 顎関節後側 6: 側頭筋突起付着部 7: 側頭筋前縁 8: 側頭筋中央 9: 胸鎖乳突筋停止 10: 胸鎖乳突筋中央 11: 胸鎖乳突筋起始 12: 後頭筋 13: 頸部 14: 肩部 15: 頭頂部 16: 外側翼突筋下部 17: 内側翼突筋停止 18: 顎二腹筋後腹 19: 顎舌骨筋 20: 舌筋

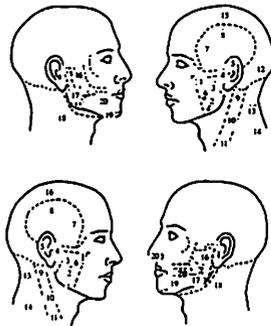


図1 審査用紙 (文献2) から引用

表2 顎関節機能障害の発症頻度

学 校 別	年 齢	男		女		合 計	
		発症人数 /総人数 (%)	総人数 (%)	発症人数 /総人数 (%)	総人数 (%)	発症人数 /総人数 (%)	総人数 (%)
小 学 校 (5年生, 6年生のみ)	10~12	4/156	2.6	2/147	1.4	6/303	2.0
中 学 校	12~15	19/240	7.9	20/240	8.3	39/480	8.1
高 等 学 校	15~18	87/699	12.5	83/716	11.6	170/1415	12.0
合 計		110/1095	10.1	105/1103	9.5	215/2198	9.8

文献2) より改変

節部疼痛は小学生0.7%、中学生1.5%、高校生2.0%であった。また、開口障害も少なく、小学生にはなく、中学生0.2%、高校生0.3%であった。

近年、若年者の顎関節機能障害の発症が増加しているとの見解に基づき、口腔機能の今後を危惧する見解

表3 3大症状の発症分布

症状	顎関節雑音					
	男		女		合計	
	人数	各人数%	人数	各人数%	人数	各人数%
小学校	3	1.9	1	0.7	4	1.3
中学校	15	6.3	17	7.1	32	6.7
高等学校	80	11.4	72	10.1	152	10.7
合計	98	8.9	90	8.2	188	8.6

症状	顎関節部疼痛					
	男		女		合計	
	人数	各人数%	人数	各人数%	人数	各人数%
小学校	1	0.6	1	0.7	2	0.7
中学校	5	2.1	2	0.8	7	1.5
高等学校	10	1.4	18	2.5	28	2.0
合計	16	1.5	21	1.9	37	1.7

症状	開口障害					
	男		女		合計	
	人数	各人数%	人数	各人数%	人数	各人数%
小学校	—	—	—	—	—	—
中学校	—	—	1	0.4	1	0.2
高等学校	3	0.4	2	0.3	5	0.3
合計	3	0.3	3	0.2	6	0.3

文献2)より改変

を訴えている事を耳にする。しかし、日本人小児の一般集団に顎関節機能障害の発症頻度が増加しているという正確な報告は存在しなかった。そこで、著者らは1984年に調査報告<sup>2)</sup>した時と診査者の半数が同一で、同一方法により、同一地域、同一対象校において顎関節機能障害の発症頻度を調査し、8年後の症状の変化状況を検討し、現在日本人一般小児の顎関節機能障害が本当に増加しているか否かを調査したのでその結果を記述する。

対象は、鹿児島市内にある市立F小学校の5、6年生、市立F中学校、鹿児島市立J高等学校、県立K工業高等学校、県立M高等学校、それと県立T高等学校の計6校の生徒である。対象者数は表4に示した。

調査期間は1992年4月から5月の2ヶ月間である。調査は前もって十分な診査の訓練と打ち合わせを行った歯科医4名か6名にて実施した。なお、比較対象とした1984年の大野ら<sup>2)</sup>の報告と研究方法は同じであり、診査者の半数は同一人である。

顎関節機能障害の発症頻度は、小学5、6年生合わせて男子3.8%、女子12.3%男女合計で8%であった。

表4 対象者数

学 校	男子	女子	合計
F小学校(5,6年)	158	154	312
F中学校	300	286	586
T高等学校	487	330	817
J高等学校	—	374	374
M高等学校	378	334	712
K高等学校	342	—	342
全高等学校	1,207	1,038	2,245
全 体	1,665	1,478	3,143

\* K高等学校は、男女共学であるが、女子が極端に少ないため、女子を調査対象から除いた。

文献11)から引用

表5 学生別性別顎関節機能障害の発症頻度

%, ( )は該当者数

学 生	男 子	女 子	合 計
小学生 (5,6年)	3.8% (6)	12.3% (19)	8.0% (25)
中学生	9.7% (29)	15.4% (44)	12.5% (73)
高校生	15.7% (190)	19.0% (197)	17.2% (387)
合計	13.5% (225)	17.6% (260)	15.4% (485)

文献11)より引用

中学生では男子9.7%、女子15.4%男女合計12.5%であった。高校生は男子15.7%、女子19.0%男女合計17.2%であった。対象者全員では、男子13.5%、女子17.6%で男女合計15.4%であった(表5参照)。

1984年の報告<sup>2)</sup>と比較して、小学生、中学生、高校生すべてにおいて1992年の方が<sup>1)</sup>有意に高頻度を示した。小学生、中学生の男子でも1992年の方が高頻度を示したが、有意差は示さなかった。女子では1992年の調査が有意に高頻度を示した。高校生では男女とも1992年の調査が有意に高頻度を示した。(表6参照)

表6 学生別性別顎関節機能障害の発症頻度比較

(1984年:1992年)%

	男 子		女 子		合 計	
	1992	1984	1992	1984	1992	1984
小学生 (5,6年生)	3.8	2.6	*12.3>	1.4	*8.0>	2.0
中学生	9.7	7.9	**15.4>	8.3	**12.5>	8.1
高校生	**15.7>	12.5	*19.0>	11.6	*17.2>	12.0
合計	*13.5>	10.1	*17.6>	9.5	*15.4>	9.8

&gt;は統計学的有意差が認められた項目

\*: p&lt;0.01, \*\*: p&lt;0.05

文献11)より引用

鹿児島市内の小学生、中学生、高校生3,143名を対象として顎関節機能障害の発症頻度を調査し、8年前に著者らの行った同様の調査と比較検討した結果以下のようなことが解った。

鹿児島市内の若年発症顎関節機能障害の頻度は、8年前と比較して有意差を認めて増加していた。発症頻度の増加は、男女差を認め特に女子に著しく増加していた。

#### IV. 若年者の顎関節機能障害症状の個人内での経年的変動について

顎関節機能障害の三大症状は、症状が発症しても自然に消失する確率が高く、一過性であるならばその症状を心配する必要はない。しかし、顎関節機能障害症状は個人内で症状が消失したり再度発症したりして変化していると報告されている<sup>3, 10</sup>。この症状変化についての報告がなかったので、著者らは3年間（1984年～1986年）に渡って同一対象者の追跡調査を各年1回（4～6月）行った。<sup>10</sup>

研究方法は顎関節機能障害の発症頻度の調査方法と同一である<sup>2)</sup>。研究対象者は中学生145名（男子70名、女子75名）、高校生429名（男子202名、女子227名）である。この経年調査から、顎関節症の発症頻度は中学1年生時の男子7.1%、女子13.3%と女子に多く、2年生時も男子7.1%、女子24.0%と、1、2年生とも男子に比較して有意に女子が多かった。この少ない男子の発症頻度も中学3年生時には12.9%と増え始め、高校生になると男女差はなくなり、増齢と共に増加傾向を示していた。（表7参照）その理由は、思春期の開始は女子が9才から10才、男子は11才から12才と云われていて、男女間に2年間の差があるためと考えられている。すなわち、中学生では女子が男子に比較して高頻度を示し、中学3年生時に男子の発症頻度が増加し始め、高校生では男子の発症が増加して女子に追い付くため、男女差がなくなると考えられる。

表7 顎関節機能障害の発症頻度

学校別	1984 (1年生時)		1985 (2年生時)		1986 (3年生時)		
	発症人数/総人数	%	発症人数/総人数	%	発症人数/総人数	%	
中学校	男	5/70	7.1	5/70	7.1	9/70	12.9
	女	10/75	13.3	18/75	24.0	14/75	18.7
	合計	15/145	10.3	23/145	15.9	23/145	15.9
高校	男	24/202	11.9	32/202	15.8	67/202	33.2
	女	26/227	11.5	47/227	20.7	66/227	29.0
	合計	50/429	11.7	79/429	18.4	133/429	31.0

文献13)より改変

表8 顎関節機能障害の個人内症状変動について

学校別	3回の調査時に1回でも症状が出現した者				症状が全く出現しなかった者		合計 人数	
	3回の調査時すべて、 症状が出現した者		症状が変動した者		人数	各人数%		
	人数	各人数%	人数	各人数%			人数	各人数%
中学校	男	2	2.9	11	15.7	57	81.4	70
	女	2	2.7	30	40.0	43	57.3	75
	合計	4	2.8	41	28.3	100	69.0	145
高校	男	11	5.4	71	35.1	120	59.4	202
	女	11	4.8	77	33.9	139	61.2	227
	合計	22	5.1	148	34.5	259	60.4	429

\*この場合の症状とは、顎関節機能障害の代表的3症状を示し、1症状でも発症した場合出現としている。

文献13)より改変

逆に3年間の調査で顎関節機能障害症状が全く発症しなかったものは、中学生の男子81.4%と比較して女子は57.3%と、有意差をもって男子が多かった。また、高校生では男子59.4%、女子61.2%と差はなかったことでも、上述の見解を裏付ける資料ということが出来る。（表8参照）

顎関節機能障害の個人内の症状変動として、3回のすべての調査時に三大症状のいずれかが必ず発症していた者は、中学生2.8%、高校生5.1%であった。三大症状が発症していたもののうち、途中1回でも症状が消失した者は中学生28.3%、高校生34.5%であった（症状が3年間続いたものと、症状が初回の調査ではなく後年症状が発症したものは除外した）。（表8参照）

また、三大症状の特徴の違いをみる目的で、顎関節雑音とその他2つの（顎関節部疼痛、開口障害）症状を区別してみた。なぜならば、臨床経験からも顎関節部疼痛と開口障害はある時期に悪化し、時間が経過すれば症状が改善したり悪化したりを繰り返すのに対して、顎関節雑音の症状は安定性があり違いがあると考えたからである。著者らの研究結果によると、顎関節雑音を発症した者がその後の2度の調査で一度でも顎関節雑音の症状が消失した者（2度目の調査で症状があっても3度目の調査で症状が消失したものや初回症状がなく2回目に症状があり、3回目に症状がないものも含まれる。）は中学生48.6%、高校生22.8%であった。それに反して、顎関節部疼痛と開口障害の2つの症状が一度でも消失した者は、中学生37.5%、高校生59.0%であった。なお、2回目および3回目に連続して顎関節機能障害症状が発症した者について、共通した症状が連続して発症していた者は中学生90.0%、高校生96.8%であった。連続して発症する症状は、顎関

表9 顎関節機能障害の個人内症状変動について

学校別	3回の調査時に 関節雑音の 症状が変化した物		3回の調査で 顎関節疼痛と 開口障害の症 状が変化した者		症状がまった くなかった者	
	人数	各全人数%	人数	各全人数%	人数	各全人数%
中学校	男 7	53.8	2	18.2	57	81.4
	女 11	45.8	7	53.8	43	57.3
	合計 18	48.6	9	37.5	100	69.0
高校	男 16	21.1	7	77.8	120	59.4
	女 18	24.7	16	53.3	139	61.2
	合計 34	22.8	23	59.0	259	60.4

文献13) より改変

表10 中学生：顎関節機能障害の症状別個人内症状変動形態の一覧表

1984年			1985年			1986年			人 数		
S	P	L	S	P	L	S	P	L	男	女	合計
○	×	○	×	×	○	×	×	○	1	-	1
○	×	×	○	×	×	○	○	×	1	-	1
○	×	×	○	○	○	○	○	○	-	1	1
○	×	×	○	×	×	○	○	×	-	1	1
○	×	×	○	×	×	×	×	×	1	-	1
×	×	○	○	○	○	×	×	×	1	-	1
×	×	×	○	×	×	○	○	×	1	-	1
×	×	×	○	×	×	○	×	○	-	2	2
×	×	×	×	×	○	○	○	○	-	1	1
×	×	×	×	○	○	○	×	×	-	1	1
○	×	×	×	×	×	○	○	×	1	-	1
○	×	×	×	×	×	×	×	×	1	3	4
×	×	○	×	×	×	×	×	×	1	2	3
×	○	×	×	×	×	×	×	×	-	1	1
×	×	×	○	×	×	×	×	×	2	7	9
×	×	×	×	×	○	×	×	×	-	2	2
×	×	×	○	○	○	×	×	×	-	1	1
×	×	×	×	×	×	○	×	×	4	7	11
×	×	×	×	×	×	×	×	○	1	-	1
×	×	×	×	×	×	×	○	×	-	1	1
×	×	×	×	×	×	×	×	×	57	43	100

S：関節雑音      ○：症状あり  
P：顎関節部疼痛      ×：症状なし  
L：開口障害

文献13) より引用

節雑音が最も多く、中学生63.6%、高校生92.1%を占めていた。(表9, 10, 11参照)

以上の結果より、思春期にさしかかる中学生が顎関節機能障害の初発期であり、顎関節雑音も症状として発症したばかりで一過性の症状(歯列弓の発育終末期の調整)も含まれ、症状の安定性がないため、個人内

表11 高校生：顎関節機能障害の症状別個人内症状変動形態の一覧表

1984年			1985年			1986年			人 数		
S	P	L	S	P	L	S	P	L	男	女	合計
○	×	×	○	×	×	○	×	×	10	7	17
○	×	×	○	×	○	○	×	×	1	-	1
○	×	○	○	×	×	○	×	×	-	2	2
○	×	○	○	×	×	○	×	○	-	1	1
○	×	×	○	○	○	○	×	×	-	1	1
○	×	×	○	×	×	×	×	×	1	3	4
○	×	×	○	○	○	×	×	×	-	1	1
×	○	○	×	○	○	×	×	×	-	1	1
×	×	○	○	×	×	×	×	×	-	1	1
×	×	×	○	×	×	○	×	×	11	17	28
×	×	×	○	×	×	○	○	○	1	-	1
×	×	×	○	○	○	×	○	×	1	-	1
×	×	×	○	×	○	○	×	×	-	1	1
×	×	×	○	○	○	○	×	×	-	1	1
×	×	×	×	○	○	○	×	×	-	1	1
○	×	×	×	×	×	○	×	×	5	1	6
×	×	○	×	×	×	×	×	○	-	1	1
○	×	×	×	×	×	×	×	×	3	3	6
×	×	○	×	×	×	×	×	×	3	1	4
×	○	×	×	×	×	×	×	×	1	1	2
○	○	○	×	×	×	×	×	×	-	1	1
×	○	○	×	×	×	×	×	×	-	1	1
×	×	×	○	×	×	×	×	×	6	8	14
×	×	×	×	○	○	×	×	×	1	-	1
×	×	×	×	×	○	×	×	×	-	1	1
×	×	×	×	×	×	○	×	×	37	19	56
×	×	×	×	×	×	×	○	○	1	2	3
×	×	×	×	×	×	○	○	○	-	2	2
×	×	×	×	×	×	○	×	○	-	3	3
×	×	×	×	×	×	×	○	×	-	3	3
×	×	×	×	×	×	×	×	○	-	3	3
×	×	×	×	×	×	×	×	×	120	139	259

S：関節雑音      ○：症状あり  
P：顎関節部疼痛      ×：症状なし  
L：開口障害

文献13) より引用

の症状変動が多いと考えられる。高校生になると永久歯列も完成し発症すべき症状が出揃い症状も安定性が増して来るため、顎関節雑音の個人内の症状変動は22.8%まで減少したと考えられる。

顎関節雑音とは逆に、顎関節部疼痛と開口障害は、高校生になると59.0%と中学生(37.5%)より多くなっていた。このことは後者2症状の本来の特徴が、症状が発症しても一過性の症状で、症状が消失したり再度発症したりすることを示唆していると考えられる。

この発症形態から考えて、若年者の顎関節機能障害は顎関節雑音を軸に顎関節部疼痛や開口障害の発症が加わると考えられる。

#### V. おわりに

若年者の顎関節機能障害の発症頻度は、調査対象や調査方法により値が大きく異なることから、研究報告を安易に比較することは誤解や混乱を招く恐れがある。そこで、顎関節機能障害の発症頻度と個人内の症状変動について現在確実に解っている事だけをまとめると次のようになる。

1) アンケート法、インタビュー法および臨床検査法の3調査法により、同一対象者に顎関節機能障害の発症頻度の調査を行った。それらの結果は、インタビュー法、アンケート法、臨床検査法の順に高頻度を示した。なお、臨床検査法とインタビュー法との間には有意差があった。

2) 若年者の顎関節機能障害の初発期は思春期であり、その発症頻度は増齢と共に増加していた。

3) 1992年に著者らが鹿児島市で行った調査と1984年に行った同様な調査と比較して顎関節機能障害の発症頻度は、統計学的に有意差を認めて増加していた。

4) 顎関節機能障害の発症頻度の増加は、男女差を認め、特に女子で著しく増加していた。

5) 顎関節機能障害の症状で個人内で安定しているのは顎関節雑音であって高校生になると顎関節雑音が消失する事は殆んどなくなっていた。

6) 顎関節機能障害の初発症状は顎関節雑音であって、それを軸に顎関節部疼痛や開口障害の発症が加わると考えられる。

#### 文 献

- 1) Okeson J. P.: Temporomandibular disorders in children. *Dent. Pediat. J.*, 11, 325-329, 1989
- 2) 大野秀夫, 森主宜延, 堀川清一, 住和代, 島田慶子, 旭爪伸二, 小椋正: 若年者の顎関節症に関する疫学的研究—いわゆる思春期における顎関節症の発症頻度と症状分布—. *小児歯誌*, 23, 94-102,

1985

- 3) Grosfeld O. & Czarnecka B.: Musculo-articular disorders of the stomatognathic system in school children examined according to clinical criteria. *J. Oral Rehabil.*, 4, 192-200, 1977
- 4) Nilner M. & Lassing S. A.: Prevalence of functional disturbances and diseases of the stomatognathic system in 7~14 years old. *Swed. Dent. J.*, 5, 173-189, 1981
- 5) 森主宜延, 奥猛志, 堀川清一, 豊島正三郎, 小椋正, 堀準一: 調査方法による顎関節症発症頻度の差についての研究. *小児歯誌*, 30, 1031-1036, 1992
- 6) 福武直, 松原治郎編: 社会調査法, 第33刷, 48-90, 有斐閣, 東京, 1990
- 7) 岡達: 顎関節症の研究—成因および臨床像を中心に—. *口科誌*, 16, 116-123, 1967
- 8) 高田和彰, 福田道男, 田村浩一, 吉村安郎, 延藤直弥, 広瀬伊佐夫, 林毅, 岡本次郎: 顎関節症の臨床的研究, 第1報 顎関節症の統計的観察. *大阪歯誌*, 13, 291-295, 1968
- 9) 藤田寛, 金井義明, 大登剛, 富田喜内: 顎関節症の臨床的研究, 第1報 臨床統計的観察. *口外誌*, 26, 1508-1514, 1980
- 10) 藍稔: コペンハーゲン王立歯科大学咬合科における臨床(上)(下)—顎口腔機能異常と治療—. *歯界展望*, 37, 279-284, 415-422, 1971
- 11) 森主宜延, 中尾さとみ, 奥猛志, 豊島正三郎, 小椋正, 堀準一: 思春期における顎関節症発症頻度とその徴候の8年間の変化について—鹿児島市における1984年と1992年の比較—. *小児歯誌*, 31, 470-477, 1993
- 12) 大野秀夫, 堀川清一, 森主宜延, 小椋正: 若年者の顎関節症に対する臨床統計的研究. *小児保健研究*, 44, 413-417, 1985
- 13) 大野秀夫, 森主宜延, 大野和夫, 奥猛志, 小椋正: 思春期の顎関節症の個人内症状変動に関する経年的研究. *小児歯誌*, 27, 64-73, 1989

# 合成アパタイトが生み出す新しい歯科生体材料

伴 清治

鹿児島大学歯学部歯科理工学講座

## 1. はじめに

アパタイトとはギリシャ語で「欺く」とか「惑わす」という意味の言葉であり、リン酸カルシウム塩を含む種々の結晶の総称である。その一般的な化学式は



で表され、A, M, Xには種々の元素が入ることができる。Aは1, 2, 3価等の陽イオンであるCa, Ba,

Mg, Sr, Pb, Cd, Zn, Ni, Fe, Al, Laなど、MにはP, As, V, S, Siなど、XにはF, OH, Cl, Oなどが複数で入り込むことができる。したがって、表1に示すリン酸カルシウム塩系に限っただけでも類似した外観、結晶構造であるのかかわらず、組成や特性が異なる多くの結晶がある。そのために困惑し、このような呼称になったものと思われる。一方、生体アパタイト

表1 アパタイトの種類と組成

名 称	組 成
ハイドロキシアパタイト	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$
フルオロアパタイト	$Ca_{10}(PO_4)_6F_2$
クロロアパタイト	$Ca_{10}(PO_4)_6Cl_2$
炭酸アパタイト(Aタイプ)	$Ca_{10}(PO_4)_6CO_3$
炭酸アパタイト(Bタイプ)	$Ca_{10-2x/3}(PO_4)_{6-x}(CO_3)_x(OH)_{2x/3}$
炭酸含有アパタイト	上記のA, Bタイプの炭酸基の置換が部分的に生じたもの
カルシウム欠損アパタイト	ハイドロキシアパタイトと同じ構造を有し、Ca/P比が1.67より小さいもの
非晶質アパタイト	非晶質であるが焼成によりハイドロキシアパタイトが生成するもの

表2. 生体アパタイトの成分

成 分	エナメル質	象牙質	骨	ハイドロキシアパタイト
Ca <sup>2+</sup>	36.0	27.0	24.5	39.9
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> としてのP	17.7	13.0	10.5	18.5
(Ca/P)比	1.57	1.60	1.80	1.67
Na <sup>+</sup>	0.5	0.3	0.7	0
K <sup>+</sup>	0.08	0.05	0.03	0
Mg <sup>2+</sup>	0.44	1.1	0.55	0
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	2.3	4.5	5.8	0
F <sup>-</sup>	0.01	0.05	0.02	0
Cl <sup>-</sup>	0.30	0.01	0.10	0
無機質灰分	97	70	65	100
水分	1.5	10.6	8.7	3.4 (OHとして)

(R. Z. LeGeros, Prog. Crystal Growth Charact, 4, 1, 1981より改変.)

トである歯や骨はハイドロキシアパタイトに類似した構造および組成であるが、CaとP以外にCO<sub>2</sub>, Na, K, Mg, Sr, Cl, F等を含み組成は一定していない<sup>1)</sup>。表2に生体アパタイトおよび合成ハイドロキシアパタイトの成分を示すが、生体アパタイトはカルシウム欠損アパタイトや炭酸含有アパタイトの1種に分類される。この生体アパタイトの欠損部位を修復するために、合成アパタイトはすでに多くの歯科分野において臨床応用されている。現状での応用から、合成アパタイトから生み出されている新しい材料について考えてみると、この合成アパタイトあるいはアパタイトに関連する物質は21世紀の歯科界において大きな役割を担ってくるものと期待される。今回は、アパタイトの構造と性質、自分自身の関係する研究内容を踏まえ、合成アパタイトが生み出す新しい歯科生体材料について説明する。

## 2. アパタイトの構造と性質

ハイドロキシアパタイトの構造は図1に示すような六方晶系であり、Ca<sup>2+</sup>は結晶学的に独立した2つの位置を占有し、それぞれColumnar CaとScrew axis Caと呼ばれている。Screw axis Caはc軸の周りに正三角形を構成し、立体的に六角柱をなすように配列している<sup>2-4)</sup>。Columnar Caが他の陽イオンと置換しやすいといわれている。また、OHはFおよびClなどに容易に置換する。

表3に各種リン酸カルシウム塩を示すが、以下に示すように中性域では加水分解し、すべてハイドロキシアパタイトになる、

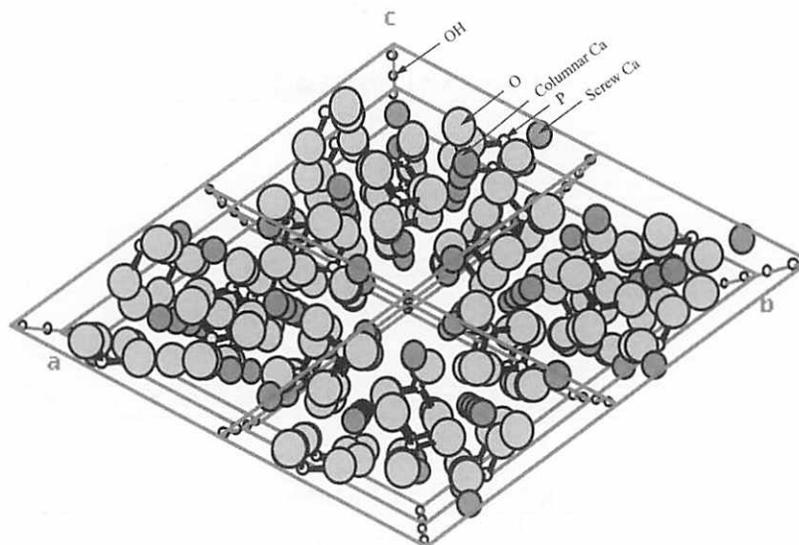
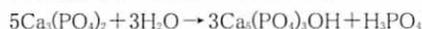
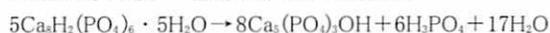


図1. ハイドロキシアパタイトの結晶構造

表3. 各種のリン酸カルシウム塩

名 称	化 学 式	略 号	Ca/P
リン酸四カルシウム	Ca <sub>4</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> O	TTCPまたはTeCP	2.0
ハイドロキシアパタイト	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	HAPまたはHA	1.67
リン酸三カルシウム	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	α-TCPおよびβ-TCP	1.5
リン酸八カルシウム	Ca <sub>8</sub> H <sub>2</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> · 5H <sub>2</sub> O	OCP	1.33
リン酸水素カルシウム二水塩	CaHPO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	DCPD	1.0
リン酸二水素カルシウム	Ca(HPO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	MCP	0.5



これは図2に示すように、中性領域ではハイドロキシアパタイトの溶解度が最も小さいためである。したがって、生体内で最も安定なリン酸カルシウム塩はハイドロキシアパタイトであり、正常な硬組織はハイドロキシアパタイトに類似した生体アパタイトである。一方、病的な硬組織であり、酸性領域で生成する歯石や唾石はTCP, OCP, あるいはDCPDが含まれることになる。

これはアパタイトの特徴的な化学的性質の一つであり、酸性溶液には良く溶解し、アルカリ性溶液には溶解しにくいということを意味し、虫歯、歯垢、歯石形成過程とこれらの予防処置とに密接に関係している。

また、アパタイトはイオン交換能に優れており、CaがCd, Sr, Ba, Pbなどの有害重金属イオンと置換する。したがって、廃液処理に利用されている。また、イタイタイ病は骨のアパタイト中のCaがCdに一部置換して起こる病気であることが証明されている。一方、アパタイトのOHはFときわめて速い速度で置換する。したがって、人骨のフッ素量を測定して年代推定に応用されている。さらに、アミノ酸、タンパク質に吸着能を有するため、薬品製造あるいは分離精製カラム充填剤として用いられている。

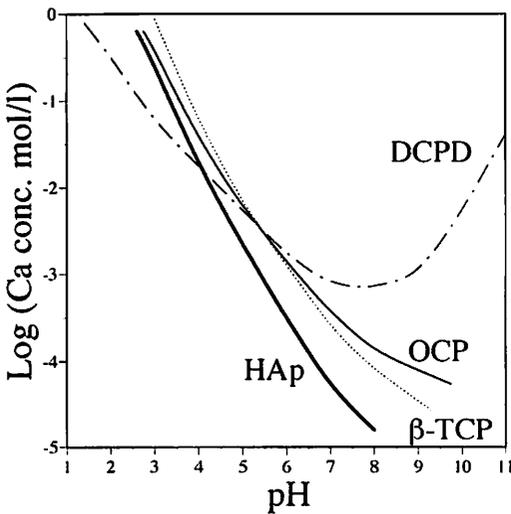


図2.  $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ 系Ca-P相の37°Cでの等温溶解度 (Elliot J.C. Structure and Chemistry of the apatites and other calcium phosphates, Elsevier, Amsterdam, 1994, pp.4, Fig.1.1を改変)

### 3. アパタイトの歯科応用の現状

リン酸カルシウム塩系アパタイトは生体アパタイトに組成と構造が類似し、生体親和性が良いため、表4に示すようにアパタイトを応用した多くの歯科材料が市販されている。例えば、ハイドロキシアパタイトを析出させたオールセラミッククラウン (セラパール<sup>®</sup>)、インプラント材料としてハイドロキシアパタイトの焼成体 (Apaceram<sup>®</sup>) またはチタンにハイドロキシアパタイトをコーティングしたもの (Steri-Oss<sup>®</sup>, Finatite<sup>®</sup>, スミシコン<sup>®</sup>)、骨充填材 (Cerabone<sup>®</sup>A-W, Apaceram<sup>®</sup>, Bonfil<sup>®</sup>, Ceratite<sup>®</sup>, Actceram<sup>®</sup>)、根管充填材 (アパタイトルートシーラー<sup>®</sup>) などがある。

これらの材料は、①アパタイトと称されるもの、②アパタイトを出発原料として反応したもの、③中間生成物としてアパタイトが生じるもの、④反応により最終的にアパタイトになるもの、⑤間接的にアパタイトの生成に関与するものであり、アパタイトが何らかのステップで関係している物質である。

表4. アパタイトを応用した市販歯科材料

用途	商品名 製造元 (販売元)
歯磨材 アパタイト含有歯予防歯磨材	アバガード <sup>®</sup> M, サンギ アバガード <sup>®</sup> MZ, サンギ APホワイト <sup>®</sup> , サンスター
人工歯根	Apaceram <sup>®</sup> , 旭光学 Steri-Oss <sup>®</sup> , Bausch & Lomb (ヨシダ) Finatite <sup>®</sup> , 京セラ スミシコン <sup>®</sup> 新和工業 (日本光研)
口腔外科 骨補填材 (多孔体および緻密体)	Cerabone <sup>®</sup> A-W, 日本板硝子 (日本レグリー) Apaceram <sup>®</sup> , 旭光学 Bonfil <sup>®</sup> , 三菱マテリアル (吉富製薬) Ceratite <sup>®</sup> , 日本特殊陶業 (中外製薬) Bonaceram <sup>®</sup> , 住友製薬
歯周病 骨補填材 (顆粒および粉末状)	Cerabone <sup>®</sup> A-W, 日本板硝子 (日本レグリー) Apaceram <sup>®</sup> , 旭光学 Bonfil <sup>®</sup> , 三菱マテリアル (吉富製薬) Ceratite <sup>®</sup> , 日本特殊陶業 (中外製薬) Actceram <sup>®</sup> , TDK (Lion)
歯内療法 根管充填材	アパタイトルートシーラー <sup>®</sup> , サンキン
裏装材	アパタイトライナー <sup>®</sup> , サンキン
歯冠修復材 鋳造法オールセラミッククラウン	セラパール <sup>®</sup> , 京セラ
セメント	バイオメント <sup>®</sup> , 山八歯材 アバメント <sup>®</sup> , 日本アパタイト

#### 4. アバタイトが関係する新しい歯科生体材料

医科領域、歯科領域およびそれらの関係学会で注目されているアバタイト関連の材料から、今後の動向を考えてみると、大きくは、以下のように、吸着作用の応用、成形法の改良、機械的性質の改良、生体活性の向上、再生医学との融合の五つに分類される。

##### (1) 吸着作用の応用

過酸化水素や過酸化カルバミノなどの過酸化物を含む漂白剤による歯の漂白効果に関する研究が活発化しているが、二酸化チタンとアバタイトを複合化しTiO<sub>2</sub>光触媒を利用することにより損傷の少ない漂白が可能との報告がなされている<sup>3)</sup>。二酸化チタン0.06wt%、過酸化水素6wt%、ケイ酸マグネシウムナトリウム1.8wt%水溶液で、TiO<sub>2</sub>単体の光触媒よりも、二酸化チタンとアバタイトを複合化した場合の方が光触媒効果が良いことが確認されている。これは、アバタイトの吸着効果が作用するためと考えられている。

##### (2) 成形法の改良

歯科修復物は従来より、オーダーメイドで製作されており、歯科領域では治療に用いる材料の成型法の改善が最重要課題であり、アバタイトに関しては以下のようなことがあげられる。

###### ① CAD/CAMによるオーダーメイド

コンピュータ技術、医用計測技術、情報技術 (IT)、NCマシンの発展により、CAD/CAMによる成形が容易となり、患者個々に対応した寸法・形状の高強度セラミックス製修復物がオーダーメイドで製作することが可能となってきた。高密度焼成の高強度アバタイトが人工歯根インプラントだけではなく、クラウン・インレーにも適用できる可能性がある。

###### ② アバタイトペースト

三菱マテリアルが大正製薬よりBiopex<sup>®</sup>という商品名で2000年6月販売した粉末はα-TCP75%、TTCP18%、DCPD5%、HA2%からなり、練和液はコンドロイチン硫酸ナトリウムとコハク酸2ナトリウム無水物の水溶液である。粉末を練和液でペースト状にして注射器に入れて充填する。手術をせずとも患部に注射針でペーストを注入し、生体内でアバタイトに転化し、骨修復を促進するとしており、臨床成績も良好であると報告されている。ただし、最終強度の発現までの期間短縮および強度向上のさらなる改善が望まれる。パ

イオアクティブペースト研究会が2000年12月1日に発足し、この種の生体活性アバタイトペーストの開発研究が活発化すると考えられる。

##### (3) 機械的性質の改良

アバタイトは生体適合性が良好であることは大きな利点であるが、機械的性質は不十分であり修復部の機械的機能回復に単体で貢献することは、特殊な例を除き、現状では困難である。したがって、その機械的性質の改善が望まれており、他の材質との複合化および単結晶の育成が有効であると思われる。

###### ① 複合化

機械的性質の良好な金属の表面改質方法として、表5に示すように、種々の方法が検討されている。この中で、歯科用インプラントとして、チタンへのアバタイト・プラズマコーティング処理製品がすでに市販されている。しかし、前述したようにオーダーメイド医療を考慮すると技工室レベルで容易に、安価・小型の装置でアバタイトコーティングが可能となる必要がある。このために、多方面の取り組みがなされているが、著者らは図3に示すようなガラスにハイドロキシアバタイトを含有させ、最表層ほどハイドロキシアバタイト含有量が高くなるように濃度傾斜させたHA-G-Ti複合材料を整形外科領域の大腿骨インプラントのため

表5. 金属インプラントの表面改質方法

粗面化	(1)エッチング (2)サンドブラスト (3)ブラスト+エッチング (4)チタンプラズマスプレー
酸化処理	(1)大気酸化 (2)陽極酸化 (3)ワイヤー放電加工
化学処理	(1)イオン注入 (2)アルカリ処理
セラミックコーティング (アバタイト、アルミナ)	(1)プラズマスプレー (2)スパッタリング (3)イオンビーム (4)ゾルゲル法 (5)溶着 (6)電気泳動 (7)電気化学 (8)陽極酸化/水熱処理
生体由来物質との複合化	BMPなど

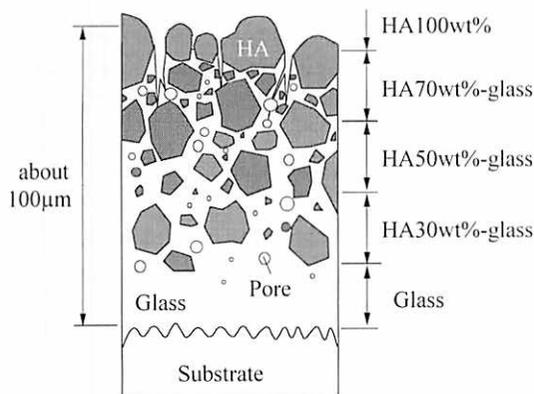


図3. ハイドロキシアパタイト含有ガラスコーティングチタン傾斜機能複合体の構造模式図

に開発し<sup>6-8)</sup>、厚生省に認可申請中である。このコーティング手順は歯科における陶材溶着金属冠作成手順に類似しており、インプラント表面に技工室の現有設備で容易に実施することができる。ただし、人工歯根としての研究成果が少ないため、データのさらなる蓄積が必要である。

金属との複合体は弾性係数が骨よりも大きいことが問題視されている。一方、高分子との複合では弾性係数を骨に近づけることができ、高密度ポリエチレン中にハイドロキシアパタイトを分散させたHAPEX<sup>®</sup>が開発<sup>(1995)</sup>されている<sup>9)</sup>。しかし、ハイドロキシアパタイト含有量は40vol%であり、その生体活性を十分に発揮できるかが懸念される。

生体高分子であるコラーゲン繊維にアパタイトを複合化させたもの<sup>10)</sup>、表6に示す組成の疑似体液(SBF)<sup>11)</sup>への浸漬によるポリエステル繊維表面へアパタイトコーティング、分子レベルの修飾有機-無機複合体など、

表6. 疑似体液組成

イオン	イオン濃度 (mol/m <sup>3</sup> )	
	疑似体液	ヒト細胞外液
Na <sup>+</sup>	142.0	142.0
K <sup>+</sup>	5.0	5.0
Mg <sup>2+</sup>	1.5	1.5
Ca <sup>2+</sup>	2.5	2.5
Cl <sup>-</sup>	147.8	103.0
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	4.2	27.0
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1.0	1.0
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.5	0.5

有機高分子との複合化の研究<sup>12, 13)</sup>が活発になるものと考えられる。天然骨はコラーゲン繊維にアパタイトが沈着した有機-無機複合体であるが、その構造を模倣することにより、機械的性質・生物学的性質の両者ともに天然骨の性質に近づけるといふ方法である。

② 単結晶

ハイドロキシアパタイトは一般に強度が低いとされているが、大きな単結晶が生成できればこの問題点は克服できる。基本的に六方晶系でc軸方向に細長く成長しやすいため、水晶のような六角柱状の棒が作製できる可能性がある。乾式法、湿式法による取り組みがある。温度勾配(180-260℃)を利用した水熱合成<sup>14)</sup>では幅0.2mm、長さ12mm、高圧乾式下(50-100MPa, 1400℃)<sup>15)</sup>では幅1mm、長さ30mmの針状ハイドロキシアパタイト単結晶の合成が報告されている。著者らは湿式法すなわち水熱・電気化学法による合成を試みており、現状では図4に示すように、幅30μm、長さ300μm程度の針状結晶が最大である<sup>16-18)</sup>。しかし、合成条件の再検討により、サイズの向上が期待できる。

(4) 生体活性の向上

アパタイトの最大の利点である生体活性をさらに高めることが試みられている。形態、組成の改善にとどまらず、生体由来物質と複合せ薬理機能を付与し、また、分極など物理的エネルギーの介在により、その効果を高めようと検討されている。

① 形態の改善

緻密体、多孔体、顆粒など、多様な形態のアパタイトが作製可能となってきた。Bioglass<sup>®</sup>を開発したHenchらは1970年代初頭に開発したBioglass<sup>®</sup>粉末が歯周病治療に有効であることを1998年に報告し、その粉末を新たにPerioglass<sup>®</sup>と呼称している<sup>19)</sup>。一方、珊瑚

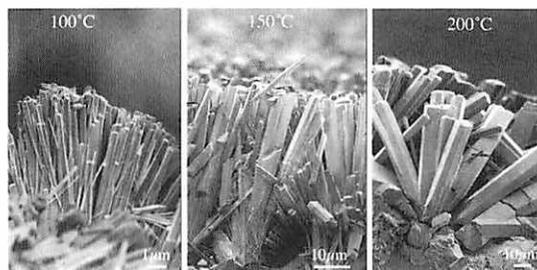


図4. 電気化学的析出した針状アパタイトの走査電子顕微鏡像

を利用して合成された貫通孔を有する多孔質ブロックや粉末で市販されている Pro Oston 500R<sup>®</sup>はヒト海綿骨類似の形態であり、後に述べる細胞との融合を図らなくとも優れた骨伝導性を有すると称している。

一方、著者らは図4に示したように、針状のアパタイトを金属基板上に電気化学的に析出する方法を開発しているが、基板に対して垂直方向に長く均一に配向したアパタイトのサイズ・形状を、治療目的に応じて容易に制御できる<sup>20)</sup>。

### ② 組成の改善

従来はハイドロキシアパタイトが歯科領域で利用されるアパタイトの代表であり、純度が高く、結晶性の高いハイドロキシアパタイトを作製することが大学での研究、企業での製品開発の中心であった。しかし、体液への溶解性を高め生体活性の向上を期待し、炭酸を含有したアパタイト<sup>21)</sup>、Mg<sup>22)</sup>、Si<sup>23)</sup>、Zn<sup>24)</sup>等の金属イオンを添加することにより接触する細胞の活性を高めようとするものなど組成的工夫による取り組みがなされている。とくに亜鉛は破骨細胞の分化を抑制し、骨芽細胞の分化を促進し、亜鉛欠乏性骨粗鬆症の治療薬剤として期待されている。

### ③ 薬理機能の付与

生体由来物質である骨形成因子 (BMP)、エムドゲイン<sup>®</sup>との複合が行われている。エムドゲイン<sup>®</sup>はブタの歯胚の酸性抽出物を精製・凍結乾燥して作られる生体由来タンパク質である。このエムドゲイン<sup>®</sup>は、その周囲に細胞が誘導され付着すると、セメント質、歯根膜、歯槽骨を形成する細胞に分化する働きをもつとされている<sup>25)</sup>。1995年にスウェーデンで商品化され、日本では1997年ころより、応用されるようになった。しかし、非加熱製剤であるため医療用具回収クラスⅢ

$\alpha_{s1}$ (59-79)

Gln-Met-Glu-Ala-Glu-Ser(P)-Ile-Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu-Ile-Val-Pro-Asn-Ser(P)-Val-Glu-Gln-Lys.

$\beta$  (1-25)

Arg-Glu-Leu-Glu-Glu-Leu-Asn-Val-Pro-Gly-Glu-Ile-Val-Glu-Ser(P)-Leu-Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu-Ser-Ile-Thr-Arg.

図5. CPPに含まれる主要なペプチド

(その製品の使用等が、健康被害の原因となるとはまず考えられない状況)ではあるが、万全を期すため特定ロットを2000年11月15日から自主的に回収する旨が販売会社より発表された。これ以降、このエムドゲイン<sup>®</sup>の使用は控えられている。

CPP-ACP<sup>®</sup>は非晶質リン酸カルシウムと牛乳タンパクの一種のカゼイン由来のカゼインホスホペプチドの複合体である。CPP部分の構造の特徴は図5に示すように、複数の連続したホスフォセリル基Ser(P)に酸性アミノ酸が結合したホスフォセリルクラスター配列-Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu-を含んでいる<sup>26)</sup>。これを添加したりカルデント<sup>®</sup>ガムが特定健康用食品として2000年6月13日に認可されており、う蝕予防と再石灰化を促すとされている。これは、このペプチドがリン酸カルシウムイオンの貯蔵庫として働くためと考えられている<sup>27)</sup>。また、キシリトール、海藻フノリ抽出物(フノラン)<sup>28)</sup>および第2リン酸カルシウムを組み合わせるガムに添加したキシリトール・ガム+2<sup>®</sup>が特定健康用食品として2001年5月15日に発売され、再石灰化率は従来のキシリトール単体のガムよりも2.5倍の効果があると公表されている。

これらの薬理機能を有する物質の担体として、また、これらの物質を体内に徐々に放出するという徐放性を付加するための物質としてアパタイト関連物質が期待されている。

### ④ 分極

骨は圧電作用があり、凸の曲げられた部分がプラスに、凹に曲げられた部分がマイナスになり、プラス側は骨が吸収され、マイナス側に骨が成長してくるというWolfの報告(1892)がある。コラーゲンにより発生したピエゾ電気の刺激により造骨細胞の働きが活性化するためと考えられている。一方、コラーゲンを含まない合成アパタイトは圧電作用はないが、絶縁体(誘電物質)であり、分極させることができる。体内に埋入することにより陰極側の骨再生が活発になるという電気エネルギーを応用した活性方法である<sup>29)</sup>、<sup>30)</sup>。

### ⑤ 生体模倣

ナノ・ケモテクノロジーはナノ粒子やナノチューブなどナノスケールの構成ユニットを作製し、それらを制御された条件下で、集積、処理し、優れた物性を示す様々な材料を製造する技術である。この技術と生体模倣技術を活用して、疑似体液中で有機高分子中にアパタイトを析出させる研究が行われている<sup>31)</sup>、<sup>32)</sup>。

### (5) 再生医学との融合

再生医学は21世紀に最も注目を集める治療分野であり、歯科においても再生歯科医学として独自の領域を切り開こうとしている。この中で組織工学は体外での組織培養により臓器を作り出す技術であり、狭義には再生医学は組織工学を指す。組織工学は細胞の足場(Scaffold)、幹細胞、成長因子の3要素が適当な環境で、所定の期間を経て目的の生体組織が再生されることになる。したがって、足場が不可欠であり、骨再生用の足場の材料としてはアパタイト関連セラミックスが有望視されている<sup>33, 36)</sup>。足場の材料は組織再生を阻害しないことだけでなく、再生の場を確保するための適当な力学的強度を保持していなければならない。アパタイト関連セラミックスはこれらの役割を十分に担うことができる。また、アパタイト系の物質であれば生体吸収性である必要はなく、再生した骨組織と一体化すると考えられる。

### 5. 生体由来物質の有益性と危険性

エムドゲイン<sup>®</sup>の一部ロットが非加熱製剤として回収されたことを前述したが、他の生体由来物質関連の話題を2, 3紹介したい。

2001年3月25日に、欧州における狂牛病(牛海綿状脳症)の発生をふまえ、厚生労働省はウシおよびその他反芻動物(ヒツジ、ヤギ、水牛など)に由来する原料を用いて製造される医薬品、医療用具、医薬部外品および化粧品について、当分の間輸入を原則禁止とする旨の通達をした。この通達で該当する製品として日本歯科医師会はBIO-OSS<sup>®</sup>、BIO-GIDE<sup>®</sup>(以上、スイス:ウシ由来骨補填剤)、Life Net Freeze Dried Bone<sup>®</sup>、Demin-Cort<sup>®</sup>(以上、米国:脱灰凍結乾燥骨)などがであると公表し、個人輸入に対し、注意を促した。

また、2001年7月12日には、ヒトの脳からとった硬膜を脳外科手術で移植された人が、痴ほう症状に陥る難病クロイツフェルト・ヤコブ病に感染したとされる問題で、厚生労働省は乾燥硬膜が人工歯根(インプラント)などの歯科領域の手術などでも使われていた恐れがあるとして患者調査の項目に追加する方向で検討に入った。

さらに、2001年10月22日に千葉県白井市で見つかった狂牛病の疑いのある牛が、英国獣医研究所で狂牛病であると確定診断されて以来、現在(2002年3月7日)までに合計3頭の狂牛病の牛が国内で確認され、医療における生体由来物質の使用にまで影響を及ぼし、各

界での混乱は今も続いている。

このようにアパタイトの生成を促進するとされる生体由来物質は、きわめて有益な性質を有している反面、感染という危険もつきまとう。新しい材料や薬品を使う場合、常にこのような“Benefit and Risk”があることを理解した上で、慎重に使用されることが望まれる。

### 参考文献

- 1) LeGeros, R. Z.: Apatites in biological systems. *Prog. Crystal Growth Charact.*, 4, 1-45, 1981
- 2) Kay, M. I., Young, R. A. & Posner, A. S.: Crystal structure of hydroxyapatite. *Nature*, 204, 1050-1052, 1964
- 3) Young, R. A.: Implications of atomic substitutions and other structural details in apatites. *J. Dent. Res.*, 53, 193-203, 1974
- 4) 青木秀希, 丹羽滋郎: バイオセラミックスの開発と臨床. クインテッセンス, 東京, 138-158, 1987
- 5) 野浪 亨, 埴田博史, 石橋浩造, 石橋卓郎, 高見和明, 近藤 治: 二酸化チタン光触媒による変色歯牙漂白と安全性試験. 歯科材料・器械, 19 special 36, 192, 2000
- 6) Maruno, S., Ban, S., Wang, Y-F., Itoh, H. & Iwata, H.: Properties of functionally gradient composite consisting of hydroxyapatite containing glass coated titanium and characters for bioactive implant. *J. Ceram. Soc. Japan*, 100, 362-367, 1992
- 7) Ban, S., Maruno, S., Arimoto, N., Harada, A. & Hasegawa, J.: Effect of electrochemically deposited apatite coating on bonding of bone to the HA-G-Ti composite and titanium. *J. Biomed. Mater. Res.* 36, 9-15, 1997
- 8) Iwata, H., Maruno, S., Itoh, H., Ban, S., Hayashi, K. & Ishikawa, T.: Hydroxyapatite containing glass-coated titanium composite as a biocompatible material and their biological studies for cementless artificial joint and endosseous dental implant, *Bioceramics*, Vol.1, Eds. Ohnishi, H. et al., Ishiyaku EuroAmerica, Tokyo, 411-416, 1989
- 9) Wang, M., Porter, D. & Bonfield. W.: Processing, characterization, and evaluation of hydroxyapatite reinforced polyethylene composites. *British Ceramic Transactions*, 93, 91-95, 1994
- 10) Doi, Y., Horiguchi, T., Moriwaki, Y., Kitago, H., Kajimoto, T. & Iwayama, Y.: Formation of apatite-

- collagen complex. *J. Biomed. Mater. Res.*, 31, 43-49, 1996
- 11) Kokubo, T., Hayashi, T., Sakka, S., Kitsugi, T. & Yamamuro, T.: Bonding between bioactive glasses, glass-ceramics or ceramics in a simulated body fluid. *Yogyo-Kyokai-Shi*, 95, 785-791, 1987
  - 12) 大槻主税, 金 鉉敏: セラミックバイオマテリアル. *生体材料*, 18, 263-265, 2000
  - 13) Kim, H-M.: Bioactive ceramics: Challenges and perspectives. *J. Ceram. Soc. Jpn.*, 109, S49-57, 2001
  - 14) Ito, A., Teraoka, K., Tsutsumi, S. & Tateishi, T.: Hydrothermal growth of hydroxyapatite and OH-carbonated hydroxyapatite single crystals. *Proc. Intern. Symp. Environmental Issues of Ceramics*, Eds. Yanagida, H. & Yoshimura, M., The Ceramic Society of Japan, 242-248, 1995
  - 15) 末次 寧, 田中順三: 炭酸水酸アパタイト単結晶の組成制御. 第2回生体関連セラミックス討論会講演予稿集, 13, 1998
  - 16) Ban, S. & Maruno, S.: Electrochemical synthesis of calcium phosphates in a simulated body fluid. *Bioceramics*, Vol.5. Eds., Yamamuro, T., Kokubo, T. & Nakamura, T., Kobunshi Kankokai, Kyoto, 49-56, 1992
  - 17) Ban, S. & Maruno, S.: Hydrothermal-electrochemical deposition of hydroxyapatite. *J. Biomed. Mater. Res.*, 42, 387-395, 1998
  - 18) Ban, S. & Maruno, S.: Deposition of calcium phosphate on titanium by electrochemical process in simulated body fluid. *Jpn. J. Appl. Phys.* 32, L1577-1580, 1993
  - 19) Wheeler, D. L., Stokes, K. E., Hoellrich, R. G., Chamberland, D. L. & McLoughlin, S. W.: Effect of bioactive glass particle size on osseous regeneration of cancellous defects. *J. Biomed. Mater. Res.*, 41, 527-533, 1998
  - 20) Ban, S. & Maruno, S.: Morphology and microstructure of electrochemically deposited calcium phosphates in a modified simulated body fluid. *Biomaterials*, 19, 1245-1253, 1998
  - 21) Doi, Y., Koda, T., Wakamatsu, N., Goto, T., Kamemizu, H., Moriwaki, Y., Adachi, M. & Suwa, Y.: Influence of carbonate on sintering of apatites. *J. Dent. Res.*, 72, 1279-1284, 1993
  - 22) Kokubo, T., Ito, S., Sakka, S. & Yamamuro, T.: Formation of a high-strength bioactive glass-ceramic in the system MgO-CaO-SiO<sub>2</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. *J. Mater. Sci.*, 21, 536-540, 1986
  - 23) Hench, L. L.: *Bioceramics*. *J. Am. Ceram. Soc.*, 81, 1705-1728, 1998
  - 24) 伊藤敦夫, 尾島健二, 一ノ瀬昇: 亜鉛含有 TCP (ZnTCP) および ZnTCP/HAP 焼結体の作製. 第9回日本バイオマテリアル学会講演予稿集, 130, 1997
  - 25) Hirooka, H.: The biologic concept for the use of enamel matrix protein: True periodontal regeneration. *Quintessence Int.*, 29, 621-630, 1998
  - 26) 今井奨: リカルデントの再石灰化促進作用について. *Quintessence*, 20, 218-219, 2001
  - 27) Reynolds E. C.: Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solution. *J. Dent. Res.*, 76, 1587-1595, 1997
  - 28) Sato, S. et al: The inhibitory effect of funoran and eucalyptus extract-containing chewing gum on plaque formation. *J. Oral Sci.*, 40, 115-117, 1998
  - 29) Yamashita, K., Kitagaki, K. & Umegaki, T.: Thermal instability and proton conductivity of ceramic hydroxyapatite at high temperatures. *J. Am. Ceram. Soc.*, 78, 1191-1197, 1995
  - 30) Yamashita, K., Oikawa, N. & Umegaki, T.: Acceleration and deceleration of bone-like crystal growth on ceramic hydroxyapatite by electric poling. *Chem. Mater.*, 8, 2697-2700, 1996
  - 31) Siegel, R. W.: 米国におけるナノテクノロジー. *セラミックス*, 36, 324-327, 2001
  - 32) 谷原正夫, 大槻主税: 新素材で生体組織を作る. *マテリアルインテグレーション*, 14, 63-67, 2001
  - 33) 大和雅之: 組織工学とバイオマテリアル. *生体材料*, 18, 273-274, 2000
  - 34) 筏 義人: 再生医学の誕生から今日まで. *マテリアルインテグレーション*, 13, 1-6, 2000

# 酸化ストレス及び放射線障害における 細胞内ミトコンドリアの役割

馬嶋 秀行

鹿児島大学歯学部歯科放射線学講座

## 1. はじめに

最近、原因不明の難病等の原因が実は活性酸素の病気であるということがわかりつつある。これらの病気は急性ではなく慢性の疾患放射線の細胞に対する効果は、細胞核DNAに対する効果、のみではなく、細胞内redox status, anti-oxidative response, シグナルトランスダクション系, DNAトランスクリプション系の変化を伴う複雑な様相を示し、この結果として、細胞死がおこることが明らかにされつつある<sup>1,2)</sup>。一方、細胞の致死にはネクロシスとアポトーシスの2つの形態があることが知られている<sup>3,4)</sup>。放射線によって

もこの2つの致死形態があることが知られ、放射線の細胞に対する効果は核DNAに対する効果のみではなく、細胞質に対する効果もあることが知られている (Fig.1)。最近の知見では、アポトーシスにミトコンドリアが重要な役割を果たしていることが唱えられ、これらは総称してミトコンドリア関連死 (mitochondria mediated cell death) と呼ばれている<sup>5-10)</sup>。ミトコンドリア関連死では、ミトコンドリアの膜電位の減少あるいは変化<sup>9)</sup>、細胞内カルシウムの上昇<sup>9,11-13)</sup>、通常ミトコンドリアに存在するチトクロームcの放出<sup>14-19)</sup>が報告され、我々はさらに、ミトコンドリアに存在す

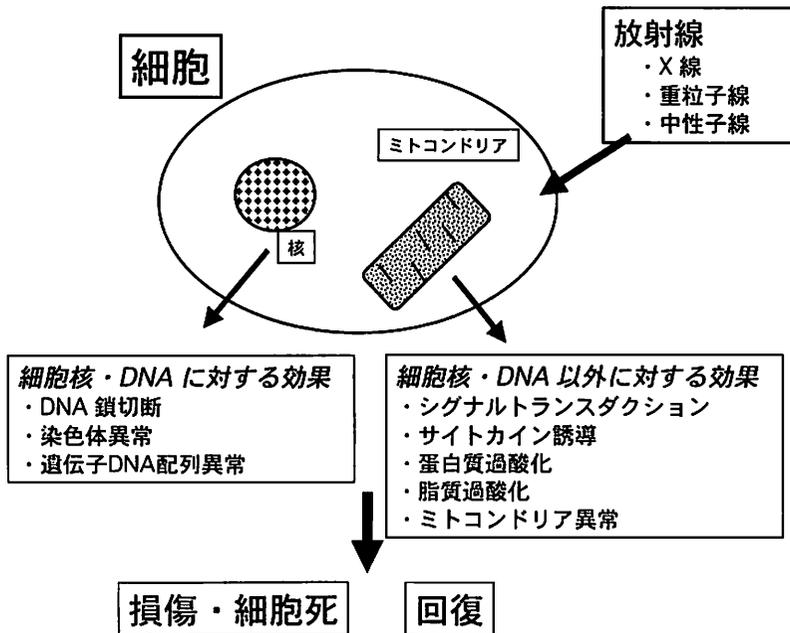


Fig.1: 放射線の細胞に対する効果は核DNAに対する効果のみではなく、細胞質に対する効果もある。

る MnSOD over-expressed 細胞でアポトーシスが抑制されることを明らかにしている<sup>20)</sup>。また、酸化ストレスによりミトコンドリア DNA に突然変異を多く発生し<sup>21, 22)</sup>、老化<sup>21-27)</sup>、および、アルツハイマー、パーキンソン、ALS 等、多くの神経疾患<sup>27-29)</sup>でやはりミトコンドリアの障害がみつまっている。すなわち、酸化ストレスとミトコンドリア障害の関連が浮きぼりにされてきている。このほか、ミトコンドリアには、前述のアポトーシスの前駆体であるチトクローム c をはじめ、apoptosis-inducing factor (AIF)、また、caspase 前駆体が存在し、自らの細胞の致死に機能している<sup>30-32)</sup>。ミトコンドリアの本来の機能は細胞内の最大のエネルギー産生機能である。一旦、この仕組みに話しを移そう。

## 2. ミトコンドリア電子伝達系とスーパーオキシド産生

ミトコンドリア内膜には電子伝達系が存在し酸素下で ATP 合成が行なわれている。この電子伝達系は Complex I から IV および ATP synthase, ANP translocator から構成されている。一方、ミトコンドリアには DNA が存在し、この DNA はこれらの蛋白質のうち 13 の蛋白質をコードしている<sup>26, 33, 34)</sup> (Fig.2)。ミトコンドリア DNA では核 DNA とコドンのシークエンスが異なることが知られている<sup>33)</sup>。このミトコンドリア電子伝達系は電子の酸化還元をくり返し、その間に水素イオンを膜間空間に移し、再び水素イオンをマトリックスに移

行させ、そのエネルギーにより ATP を ADP に変換し、その産生された ATP を膜間空間に移行している。この複雑な“バイオマシン”は細胞中の最も大きなエネルギー製造器官となっているが、一方完璧なマシンではなく、電子の“もれ”を生じることが知られている。このもれは Complex I と III から最も生ずる<sup>35, 36)</sup>。通常、正常な状態でも 2~3% の電子のもれが生じ、これからスーパーオキシドが発生すると考えられている<sup>37)</sup>。則ち、このもれ電子は酸素によりトラップされ、酸素はスーパーオキシドとなる。成人で 1 日およそ 250 g の酸素を消費するが、この 2~3% の電子のもれにより細胞では最大のスーパーオキシドの発生源となっている。ミトコンドリアには、特有のマンガンスーパーオキシドが存在するが、この酵素の役割はこのスーパーオキシドを捕獲する役割上重要であることが容易に示唆されよう。

## 3. 電子伝達系の異常と疾患

最近、この電子伝達系の異常による病気が多数報告されつつある。パーキンソン病では、電子伝達系の Complex I にその異常が集中している<sup>38-40)</sup>。前述のようにこの部は最も大きなスーパーオキシドのもれを生ずる部であり、この部の異常により、さらにスーパーオキシドのもれを生ずることが考えられる<sup>41)</sup>。この結果多量のスーパーオキシドが発生し、これがパーキンソン病の病因になっていることも考えられる。パー

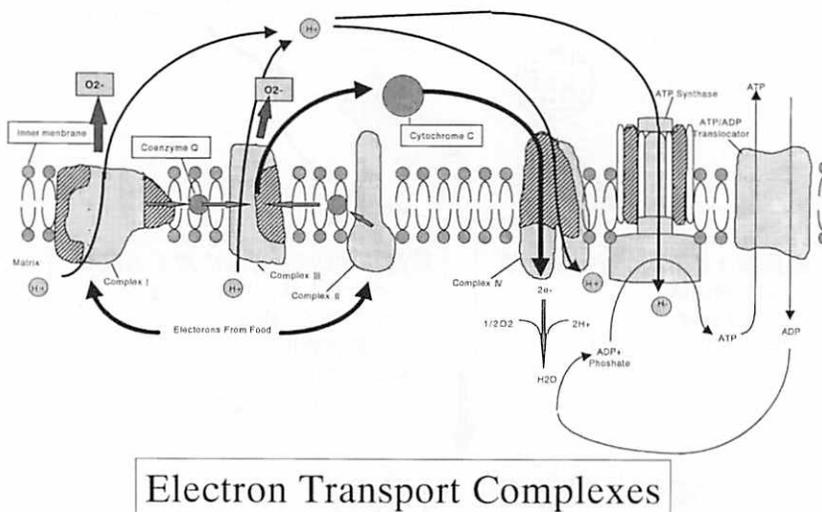


Fig. 2 : 電子伝達系の scheme。斜線の部分はミトコンドリア DNA からコードされている。

キンソン病のほか、多くの神経系疾患でミトコンドリアDNAの突然変異が報告されている<sup>34, 39, 42</sup>。これらの疾患でも同様にミトコンドリアから大量のスーパーオキシドの発生が容易に予想され、これが病因となっている可能性が大きい。老化研究では、細胞の加齢に伴い、ミトコンドリアDNAの欠損がおこることが知られている。ミトコンドリアDNAは人では16569の塩基対からなるが、このうち、一定の部分が消失する、common deletionの現象が報告されている<sup>22-27</sup>。加齢により、このようなcommon deletionが増大し<sup>22-27</sup>、また、神経障害疾患では特に、このcommon deletionが早期におこり始めることが知られている<sup>27, 43</sup>。ミトコンドリアDNA common deletionでは、この部が特に電子伝達系の蛋白質を部分的にコードしている<sup>27</sup>ため前述のように、より大量のスーパーオキシドが放出されることが予想される。これが、疾病の原因になっている可能性が大きい。スーパーオキシドが細胞内酸化の源であるということはすでに30年前からスーパーオキシドセオリー (Superoxide Theory)<sup>44-46</sup>として唱えられている。

#### 4. スーパーオキシドセオリー (Superoxide Theory)

スーパーオキシドセオリー (Superoxide Theory) とは、活性酸素のうちスーパーオキシド ( $O_2^-$ ) が、活性酸素群系列の最初を担う重要な物質であるという説である。これは、1969年に Fridovich 博士がスーパーオキシドを駆除するスーパーオキシドディスムターゼ (Cu Zn SOD) を発見したことにその端を発する<sup>47</sup>。同博士は、1973年にはミトコンドリアマンガンスーパーオキシドディスムターゼ (MnSOD) をも発見している<sup>48</sup>。ところが、およそ、その10年後には、スーパーオキシドセオリーは、あまり効果がないようなことになってしまう<sup>49</sup>。それは、スーパーオキシドはそれ自体活性は弱く、反応性に乏しいとする研究が発表されたことによる。実は、このことは数年前まで、信じられてきた。この反論説から、また、数年が経過したころには、一酸化窒素が発表され<sup>50</sup>再び注目されることになる。そののち、スーパーオキシドと一酸化窒素は容易に反応し、peroxynitrite という反応活性の著しく高い物質に変換することがわかった<sup>51</sup>。我々は、1998年には、マンガンスーパーオキシドディスムターゼの遺伝子をトランスフェクトした細胞では、活性酸素刺激により生じるアポトーシス死に対し抵抗性を示すことを明らかにした<sup>20</sup>。すなわち、ミトコンドリア内スーパーオキシドの量を少なくす

るようにコントロールすることこそ、一連の後に続く生体内反応を制御することが可能であるということの意味する。この結果は、スーパーオキシドセオリーの revival のように見える。

#### 5. 放射線障害とミトコンドリア

放射線を細胞に照射すると細胞は致死にいたる。この原因は細胞核DNAの切断に由来することがわかっている。放射線によるこのDNA切断は、放射線の直接電離による直接効果と、細胞内核DNA近傍の水分子の電離、ラディカル化を引き起こし、DNAにアタックする間接効果による<sup>52</sup>。放射線生物学では、これらの分子機構、及びDNA切断の修復機構の研究が分子生物学手法を用い、現在解明を目指し行われてきている<sup>53-55</sup>。新しい知見では、放射線がDNAのベースの過酸化も引き起こし、これが、原因でDNAに障害を引き起こすことも明らかにされている。最近では、これらの細胞核をターゲットとする研究の他、細胞質にも種々の変化をきたすこと研究成果が報告されつつある<sup>1, 2, 56</sup> (Fig.1)。これらには、放射線によるシグナルトランスダクションの変化、サイトカインの誘発、脂質、蛋白質の過酸化、及びミトコンドリア障害も報告されている。特にミトコンドリアDNAは核DNAと比較し酸化ストレスに対し感受性が高いことが報告されている<sup>57-60</sup>。放射線による細胞の障害は、細胞核における変化と、細胞質における変化の両方がおこり、これらの最終結果として細胞障害がおこることがイメージされる。前述のスーパーオキシドが放射線致死でも関連することも考えられる。

我々はミトコンドリアに障害を有する細胞における放射線感受性を調べてみた。本研究では、ミトコンドリアDNAの存在しないミトコンドリアDNA(-)細胞を用いた (Fig.3)。この細胞は、ミトコンドリア電子伝達系障害を持つ故に老化あるいは神経障害疾患の究極のモデルになりうる。ミトコンドリアDNA欠損細

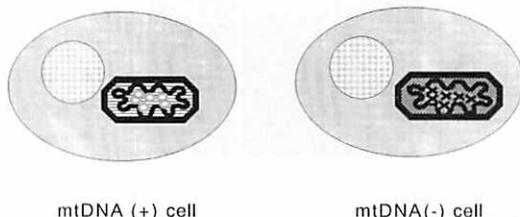
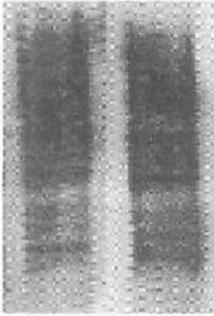


Fig.3: ミトコンドリアDNA欠損細胞 (Rho 0) scheme

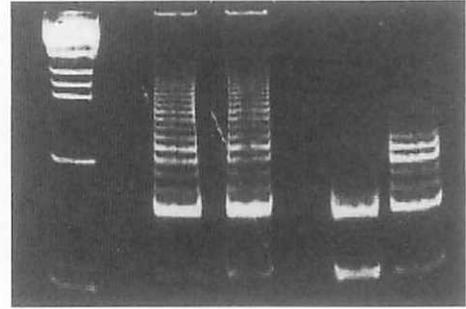
## Telomere Length



143B Rho 0

Fig. 4a. : Rho 0 細胞におけるテロメア長。  
(変化は認められない)。

## Telomerase Activity by TRAP Assay



M 143B Rho0 NC PC

Fig. 4b. : Rho 0 細胞におけるテロメラーゼ活性。  
(変化は認められない)。

胞において放射線感受性が変化すれば、ミトコンドリアが放射線感受性の変化、すなわち細胞致死機構に関連していることを示唆しよう。

ミトコンドリア DNA 欠損細胞の作成法は古く King<sup>61-63</sup>より確立された。ミトコンドリア欠損細胞 (Rho 0)、およびその親細胞 (正常ミトコンドリア+細胞) (143B)<sup>63</sup>を調べた。実験にはさらに Rho 0 細胞に正常ミトコンドリア移入した細胞 (87wt) を用いた。143B 細胞、及び Rho 0 細胞の倍加時間は各々  $15.3 \pm 1.1$ ,  $21.5 \pm 1.7$  時間と Rho 0 細胞の方が増殖が遅い。癌化、及び老化と関係が深いとされるテロメアを調べ

てみた結果、興味あることにテロメア長 (Fig. 4a)、テロメラーゼ活性とも両細胞 (Fig. 4b)とも差異を認めなかった。

これらの細胞の放射線感受性を調べると Rho 0 細胞では、高感受性として観察され、Rho 0 細胞に正常ミトコンドリア移入した細胞 (87wt) では生存率の増大が認められた (Fig. 5)。アポトーシスでは Rho 0 細胞では少なく認められた (fig. 6)。ミトコンドリア DNA は、先に述べたように電子伝達系の一部の構成蛋白質をコードしているため、電子伝達系から発生するスーパーオキサイド量を増大している可能性がある。さらに、

## Survival X-rays 4Gy

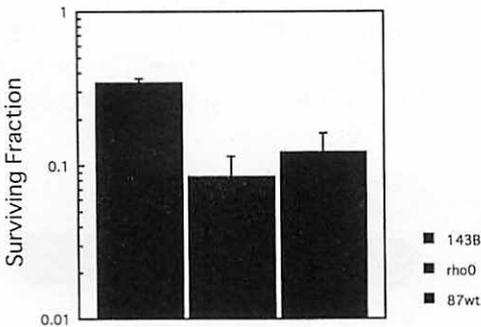


Fig. 5. : Rho 0 細胞における放射線感受性。Rho 0 細胞では高く、正常ミトコンドリア移入細胞では回復が見られる。

## DNA Fragmentation X-rays 5Gy 48hr

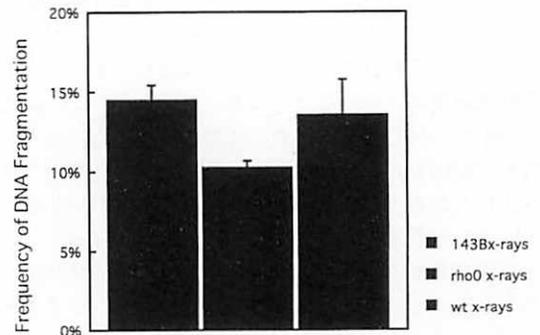


Fig. 6. : Rho 0 細胞におけるアポトーシス。Rho 0 細胞では低く、正常ミトコンドリア移入細胞では回復が見られる。

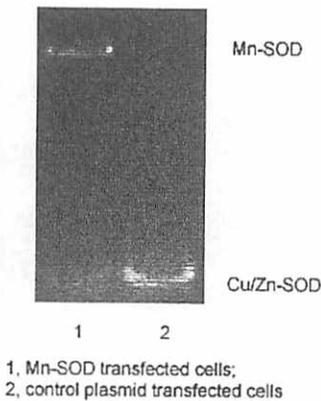


Fig. 7: マンガンスーパーオキシドディスムターゼ (MnSOD) 遺伝子トランスフェクト細胞における MnSOD 活性。

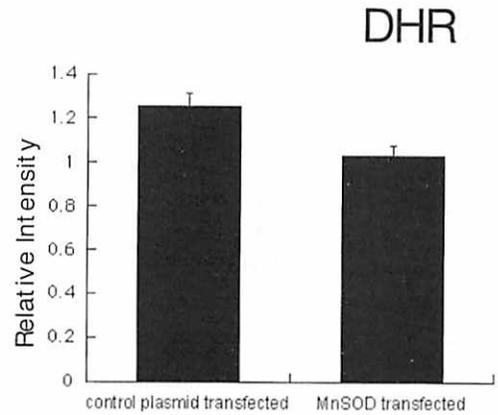


Fig. 9: MnSOD 遺伝子トランスフェクト細胞における ROS 産生。低く観察される。

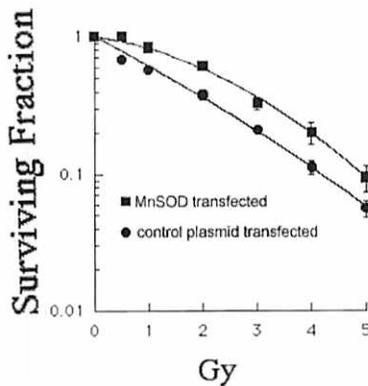


Fig. 8: MnSOD 遺伝子トランスフェクト細胞における放射線感受性。低く観察される。

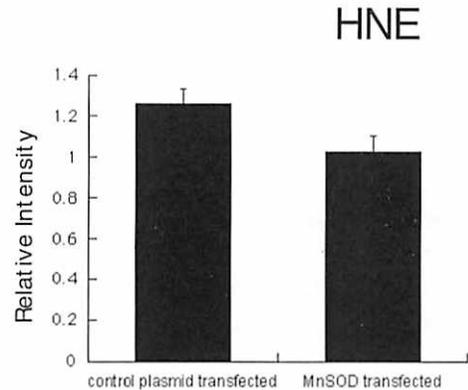


Fig. 10: MnSOD 遺伝子トランスフェクト細胞における HNE 産生。低く観察される。

ミトコンドリア内スーパーオキシドを除去するマンガンスーパーオキシドディスムターゼ (MnSOD) と放射線感受性を調べてみよう。

#### 6. MnSOD と放射線感受性

MnSOD<sup>20)</sup> はミトコンドリアに存在する酵素である。この酵素は SOD-2 とも言われ、homotetrametric の形態をとっている。ヒトでは第 6 番目の染色体にまたマウスでは 8 番目にその遺伝子が存在する。この酵素はミトコンドリアに移行する 24 個のアミノ酸からなるシグナルを有し、ミトコンドリアに到達後、そのシグナル部はクリープされ、ミトコンドリア内部に移入し局在する。スーパーオキシドと一酸化窒素は容易に反応し、peroxynitrite という反応活性の著しく高い物質に

変わる。MnSOD はミトコンドリア内で peroxynitrite 生成を阻止している可能性が高い。MnSOD と放射線感受性の関連はどうであろうか。

細胞に MnSOD 遺伝子をトランスフェクトすると、MnSOD の活性が増大して認められる (Fig. 7)。この MnSOD 遺伝子トランスフェクト発現細胞では感受性の低下が認められた (Fig. 8)。さらに、MnSOD 遺伝子トランスフェクト発現細胞では細胞内活性酸素 (Reactive Oxygen Species: ROS) (Fig. 9) 及び脂質過酸化のマーカー 4-Hydroxy-2-nonenal (HNE) (Fig. 10) の減少が認められた。

これらをまとめると放射線感受性にミトコンドリアが関与し、特にスーパーオキシドが関連するという

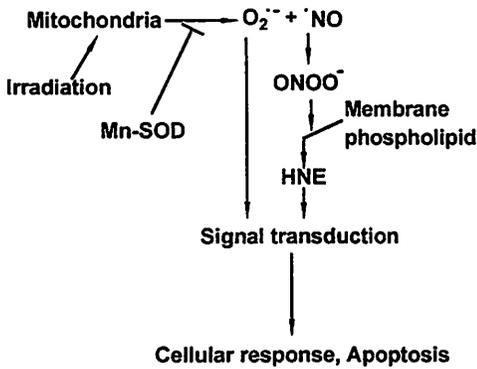


Fig. 11.: ニュースーパーオキシドセオリー (A New Superoxide Theory) scheme.

ことになる。しかも、この効果は MnSOD が阻止する。これは、前述のスーパーオキシドセオリーの再来であろう。これを筆者はニュースーパーオキシドセオリーと名付けている (Fig. 11)。

## 7. 終わりに

ミトコンドリア DNA の存在しないミトコンドリア DNA(-) 細胞が放射線に対し感受性が高いことを示した。ミトコンドリア DNA (-) 細胞に正常ミトコンドリアを導入した細胞では細胞の感受性の低下、すなわち回復が認められた。これらは、放射線による致死効果がミトコンドリア DNA によりも決定されることを示している。さらに、ミトコンドリア MnSOD 量は細胞放射線感受性を変化させることが観察された。これらは、放射線感受性決定の機序には、ミトコンドリア内活性酸素が深く関係している可能性を示している。ミトコンドリア DNA (-) 細胞は、神経疾患、老化の究極のモデルとなりうる。ミトコンドリア DNA (-) 細胞の生理学的意義の研究も行なわれてきている<sup>64)</sup>。これらの研究により、これらの疾患の生理学的意義が明らかにされよう。

## 参考文献

- 1) Schmidt-Ullrich R. K., Dent P., Grant S., Mikkelsen R. B. & Valerie K.: Signal transduction and cellular radiation responses. *Radiat. Res.*, 153, 245-257 2000
- 2) Rosen E. M., Fan S., Rockwell S. & Goldberg I. D.: The molecular and cellular basis of radiosensitivity:

implications for understanding how normal tissues and tumors respond to therapeutic radiation. *Cancer Invest.*, 17, 56-72, 1999

- 3) Ross G. M.: Induction of cell death by radiotherapy. *Endocr. Relat. Cancer*, 6, 41-44, 1999
- 4) Verheij M. & Bartelink H: Radiation-induced apoptosis. *Cell Tissue Res.*, 301, 133-142, 2000
- 5) Wallace K. B., Eells J. T., Madeira V. M., Cortopassi G. & Jones D. P.: Mitochondria-mediated cell injury: Symposium overview. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 38, 23-37, 1997
- 6) Cavalli L. R. & Liang B. C.: Mutagenesis, tumorigenicity, and apoptosis: are the mitochondria involved? *Mutat. Res.*, 398, 19-26, 1998
- 7) Heales S. J., Bolanos J. P., Stewart V. C., Brookes P. S., Land J. M. & Clark J. B.: Nitric oxide, mitochondria and neurological disease. *Biochim. Biophys. Acta*, 1410, 215-228, 1999
- 8) Kroemer G., Petit P., Zamzami N., Vayssiere J. L. & Mignotte B.: The biochemistry of programmed cell death. *FASEB J.*, 9, 1277-1287, 1995
- 9) Petit P. X., Susin S. A., Zamzami N., Mignotte B. & Kroemer G.: Mitochondria and programmed cell death: back to the future. *FEBS Lett.*, 396, 7-13, 1996
- 10) Zamzami N., Hirsch T., Dallaporta B., Petit P. X. & Kroemer G.: Mitochondrial implication in accidental and programmed cell death: apoptosis and necrosis. *J. Bioenerg. Biomembr.*, 29, 185-193, 1997
- 11) Ghafourifar P., Schenk U., Klein S. D. & Richter C.: Mitochondrial nitric-oxide synthase stimulation causes cytochrome c release from isolated mitochondria: Evidence for intramitochondrial peroxynitrite formation. *J. Biol. Chem.*, 274, 31185-31188, 1999
- 12) Ghafourifar P. & Richter C.: Nitric oxide synthase activity in mitochondria. *FEBS Lett.*, 418, 291-296, 1997
- 13) Richter C., Ghafourifar P., Schweizer M. & Laffranchi R.: Nitric oxide and mitochondrial Ca<sup>2+</sup>. *Biochem. Soc. Trans.*, 25, 914-918, 1997
- 14) Liu X., Kim C. N., Yang J., Jemmerson R. & Wang X.: Induction of apoptotic program in cell-free extracts: requirement for dATP and cytochrome c. *Cell*, 86, 147-157, 1996
- 15) Yang J., Liu X., Bhalla K., Kim C. N., Ibrado A. M.,

- Cai J., Peng T. I., Jones D. P. & Wang X.: Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science*, 275, 1129-1132, 1997
- 16) Cai J., Yang J. & Jones D. P.: Mitochondrial control of apoptosis: the role of cytochrome c. *Biochim, Biophys, Acta*, 1366, 139-49, 1998
- 17) Kluck R. M., Bossy-Wetzel E., Green D. R. & Newmeyer D. D.: The release of cytochrome c from mitochondria: a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis. *Science*, 275, 1132-1136, 1997
- 18) Slee E. A., Harte M. T., Kluck R. M., Wolf B. B., Casiano C. A., Newmeyer D. D., Wang H. G., Reed J. C., Nicholson D. W., Alnemri E. S., Green D. R. & Martin S. J.: Ordering the cytochrome c-initiated caspase cascade: hierarchical activation of caspases-2, -3, -6, -7, -8, and -10 in a caspase-9-dependent manner. *J. Cell Biol.*, 144, 281-292, 1999
- 19) von Ahnen O., Renken C., Perkins G., Kluck R. M., Bossy-Wetzel E. & Newmeyer D. D.: Preservation of mitochondrial structure and function after bid- or bax-mediated cytochrome c release. *J. Cell Biol.*, 150, 1027-1036, 2000
- 20) Majima H. J., Oberley T. D., Furukawa K., Mattson M. P., Yen H. C., Szewda L. I. & St Clair D. K.: Prevention of mitochondrial injury by manganese superoxide dismutase reveals a primary mechanism for alkaline-induced cell death. *J. Biol. Chem.*, 273, 8217-8224, 1998
- 21) Wei Y. H., Lu C. Y., Lee H. C., Pang C. Y. & Ma Y. S.: Oxidative damage and mutation to mitochondrial DNA and age-dependent decline of mitochondrial respiratory function. *Ann. N Y Acad. Sci.*, 854, 155-170, 1998
- 22) Lu C. Y., Lee H. C., Fahn H. J. & Wei Y. H.: Oxidative damage elicited by imbalance of free radical scavenging enzymes is associated with large-scale mtDNA deletions in aging human skin. *Mutat. Res.*, 423, 11-21, 1999
- 23) Linnane A. W., Marzuki S., Ozawa T. & Tanaka M.: Mitochondrial DNA mutations as an important contributor to ageing and degenerative diseases. *Lancet*, 1, 642-645, 1989
- 24) Kopsidas G., Kovalenko S. A., Heffernan D. R., Yarovaya N., Kramarova L., Stojanovski D., Borg J., Islam M. M., Caragounis A. & Linnane A. W.: Tissue mitochondrial DNA changes: A stochastic system. *Ann. N Y Acad. Sci.*, 908, 226-243, 2000
- 25) Ozawa T.: Genetic and functional changes in mitochondria associated with aging. *Physiol. Rev.*, 77, 425-464, 1997
- 26) Ozawa T.: Mitochondrial genome mutation in cell death and aging. *J. Bioenerg. Biomembr.*, 31, 377-390, 1999
- 27) Melov S., Schneider J. A., Coskun P. E., Bennett D. A. & Wallace D. C.: Mitochondrial DNA rearrangements in aging human brain and in situ PCR of mtDNA. *Neurobiol. Aging*, 20, 565-571, 1999
- 28) Melov S., Schneider J. A., Day B. J., Hinerfeld D., Coskun P., Mirra S. S., Crapo J. D. & Wallace D. C.: A novel neurological phenotype in mice lacking mitochondrial manganese superoxide dismutase. *Nat. Genet.*, 18, 159-163, 1998
- 29) Trounce I., Schmiedel J., Yen H. C., Hosseini S., Brown M. D., Olson J. J. & Wallace D. C.: Cloning of neuronal mtDNA variants in cultured cells by synaptosome fusion with mtDNA-less cells. *Nucleic Acids Res.*, 28, 2164-2170, 2000
- 30) Susin S. A., Daugas E., Ravagnan L., Samejima K., Zamzami N., Loeffler M., Costantini P., Ferri K. F., Irinopoulou T., Prevost M. C., Brothers G., Mak T. W., Penninger J., Earnshaw W. C. & Kroemer G.: Two Distinct Pathways Leading to Nuclear Apoptosis. *J. Exp. Med.*, 192, 571-580, 2000
- 31) Kroemer G. & Reed J. C.: Mitochondrial control of cell death. *Nat. Med.*, 6, 513-519, 2000
- 32) Susin S. A., Lorenzo H. K., Zamzami N., Marzo I., Snow B. E., Brothers G. M., Mangion J., Jacotot E., Costantini P., Loeffler M., Larochette N., Goodlett D. R., Aebersold R., Siderovski D. P., Penninger J. M. & Kroemer G.: Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature*, 397, 441-446, 1999
- 33) Anderson S., Bankier A. T., Barrell B. G., de Bruijn M. H., Coulson A. R., Drouin J., Eperon I. C., Nierlich D. P., Roe B. A., Sanger F., Schreier P. H., Smith A. J., Staden R. & Young I. G.: Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290, 457-65, 1981
- 34) Wallace D. C.: Mitochondrial DNA in aging and

- disease. *Sci. Am.*, 277, 40-47, 1997
- 35) Beyer R. E.: An analysis of the role of coenzyme Q in free radical generation and as an antioxidant. *Biochem. Cell Biol.*, 70, 390-403, 1992
  - 36) Takeshige K. & Minakami S.: NADH- and NADPH-dependent formation of superoxide anions by bovine heart submitochondrial particles and NADH-ubiquinone reductase preparation. *Biochem. J.*, 180, 129-135, 1979
  - 37) Boveris A. & Chance B.: The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem. J.*, 134, 707-716, 1973
  - 38) Reichmann H. & Janetzky B.: Mitochondrial dysfunction—a pathogenetic factor in Parkinson's disease. *J. Neurol.*, 247: Suppl. 2, 1163-1168, 2000
  - 39) Albers D. S. & Beal M. F.: Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in aging and neurodegenerative disease. *J. Neural. Transm. Suppl.* 59, 133-154, 2000
  - 40) Kirchner S. C., Hallagan S. E., Farin F. M., Dilley J., Costa-Mallen P., Smith-Weller T., Franklin G. M., Swanson P. D. & Checkoway H.: Mitochondrial ND1 sequence analysis and association of the T4216C mutation with Parkinson's disease. *Neurotoxicology*, 21, 441-445, 2000
  - 41) Hutchin T. & Cortopassi G.: A mitochondrial DNA clone is associated with increased risk for Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 6892-6895, 1995
  - 42) Hayakawa M., Hattori K., Sugiyama S. & Ozawa T.: Age-associated oxygen damage and mutations in mitochondrial DNA in human hearts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 189, 979-985, 1992
  - 43) Esposito L. A., Melov S., Panov A., Cottrell B. A. & Wallace D. C.: Mitochondrial disease in mouse results in increased oxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 4820-4825, 1999
  - 44) McCord J. M., Keele B. B. Jr. & Fridovich I.: An enzyme-based theory of obligate anaerobiosis: the physiological function of superoxide dismutase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 68, 1024-1027, 1971
  - 45) Suzuki Y. J. & Ford G. D.: Mathematical model supporting the superoxide theory of oxygen toxicity. *Free Radic. Biol. Med.*, 16, 63-72, 1994
  - 46) Fridovich I.: Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu. Rev. Biochem.*, 64, 97-112, 1995
  - 47) McCord J. M. & Fridovich I.: Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocyte hemocuprein. *J. Biol. Chem.*, 244, 6049-6055, 1969
  - 48) Weisiger R. A. & Fridovich I.: Mitochondrial superoxide simutase. Site of synthesis and intramitochondrial localization. *J. Biol. Chem.*, 248, 4793-4796, 1973
  - 49) Sawyer D. T. & Valentine J. S.: Superoxide is not strong oxidant. *Acc. Chem. Res.*, 14, 393-400, 1981
  - 50) Palmer R. M., Ferrige A. G. & Moncada S.: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 327, 524-526, 1987
  - 51) Halliwell B., Zhao K. & Whiteman M.: Nitric oxide and peroxynitrite. The ugly, the uglier and the not so good: a personal view of recent controversies. *Free Radic. Res.*, 31, 651-669, 1999
  - 52) Hall E. J.: *Radiobiology for the radiologist*. 4th ed. JB Lippincott Co. (Philadelphia), 1994
  - 53) Leadon S. A.: Repair of DNA Damage Produced by Ionizing Radiation: A Minireview. *Semin. Radiat. Oncol.*, 6, 295-305, 1996
  - 54) Karran P.: DNA double strand break repair in mammalian cells. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 10, 144-150, 2000
  - 55) Pfeiffer P., Goedecke W. & Obe G.: Mechanisms of DNA double-strand break repair and their potential to induce chromosomal aberrations. *Mutagenesis*, 15, 289-302, 2000
  - 56) Kubota N., Hayashi J-I. & Iwamura Y.: Induction of a particular deletion in mitochondrial DNA by X rays depends on the inherent radiosensitivity of the cells. *Rad. Res.*, 148, 395-398, 1997
  - 57) Richter C., Park J. W. & Ames B. N.: Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85, 6465-6467, 1988
  - 58) Shigenaga M. K., Hagen T. M. & Ames B. N.: Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 10771-10778, 1994
  - 59) Ames B. N., Shigenaga M. K. & Hagen T. M.: Mitochondrial decay in aging. *Biochim. Biophys.*

- Acta, 1271, 165-70, 1995
- 60) Yakes F. M. & Van Houten B.: Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 514-519, 1997
- 61) King M. P. & Attardi G.: Injection of mitochondria into human cells leads to a rapid replacement of the endogenous mitochondrial DNA. *Cell*, 52, 811-819, 1988
- 62) King M. P. & Attardi G.: Human cells lacking mtDNA: repopulation with exogenous mitochondria by complementation. *Science*, 246, 500-503, 1989
- 63) Trounce I., Neill S. & Wallace D. C.: Cytoplasmic transfer of the mtDNA nt 8993 T→G (ATP6) point mutation associated with Leigh syndrome into mtDNA-less cells demonstrates cosegregation with a decrease in state III respiration and ADP/O ratio. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 8334-8338, 1994
- 64) Chandel N. S. & Schumacker P. T.: Cells depleted of mitochondrial DNA (rho0) yield insight into physiological mechanisms. *FEBS Lett.*, 454., 173-176, 1999



## 破骨細胞と関連病変

仙波伊知郎

鹿児島大学歯学部口腔病理学講座

## Osteoclast and related diseases

Ichiro Semba

Department of Oral Pathology, Kagoshima University Dental School  
8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan

### Abstract:

Osteoclast is an essential bone cell that is a supporting and driving force of bone function such as remodeling of tissue and calcium metabolism. Osteoclast represents heterogeneous morphology depended on functional activity according with local tissue microenvironment. A genetic and functional disorder of osteoclast directly causes metabolic bone diseases such as osteopetrosis and osteomalasia. Otherwise, in focal non-specific bone diseases such as direct cancer invasion and inflammation, osteoclast also play an important role for development of the diseases.

In the review, several examples of the microenvironment that may regulate osteoclast function in bone diseases are represented and discussed. In a case of adult type osteopetrosis, genetically malfunctioned osteoclasts recovered morphologically and functionally in the inflammatory lesion of mandibular osteomyelitis. The genetic disorder may present in a functional control pathway that cross-talking with an inflammatory signaling pathway. Another example, direct bone invasion by oral cancer induced high activation of osteoclasts in the area faced to the cancer foci. The process of osteoclastic activation in the cancer invasion site was directly reduced by irradiation therapy. Finally, in an inflammatory animal model, highly activated osteoclasts showed large and multinucleated morphology even if they detached from bone surface.

The evidences suggest local tissue microenvironment of osteoclast is an essential determinant for not only osteoclastogenesis but also functional activation of mature osteoclast. While, as functional depressing mechanism, control of apoptosis in osteoclast is suspected. Further investigation for factors of microenvironment that regulate osteoclast function and morphology in bone diseases is required.

**Key words:** osteoclast, microenvironment, osteopetrosis, cancer, inflammation.

## I. はじめに

破骨細胞は骨組織固有の細胞で、骨芽細胞と協調して骨組織のリモデリングとともに血中カルシウム濃度の恒常性の維持に関与し、骨組織の持つ支持機能とカルシウム濃度調節機能を担っている。従って破骨細胞の機能に異常が生じると骨組織の機能や形態異常を来し、いわゆる骨代謝性疾患が生じる。遺伝性疾患としては大理石骨病があり、また、副甲状腺機能亢進症などのホルモン異常に伴う骨病変などとともに、閉経期の女性に見られる骨粗鬆症にも関与している。一方、骨組織に炎症や腫瘍が生じた際にも破骨細胞は病変形成に大きな役割を果たしている。本稿では破骨細胞に関連する幾つかの病変を取り上げながら、破骨細胞の形態と機能について、特に破骨細胞の機能を調節する微小環境について考えたい。

## II. 破骨細胞

破骨細胞の発生・分化機構は近年まで謎に包まれていた。骨組織固有の細胞ではあるが、中胚葉由来の骨芽細胞とは異なり、血液幹細胞から分化する。単球マクロファージとは形態的、機能的に近縁であるが、最終分化には M-CSF などのサイトカインだけでは不十分で、いわゆる間質細胞との接触が必要であり、骨組織の微小環境下で最終分化が生じる<sup>1)</sup>。また、この過程に関与するシグナル経路が近年明らかになり (RANK と RANKL)<sup>2)</sup>、骨芽細胞の分化に必須の転写因子 (C/ebf1) の発見<sup>3)</sup>と相まって、骨組織固有の細胞の発生・分化機構が明らかになりつつあるといえる。

破骨細胞の機能は骨基質を脱灰し、分解・吸収することであり、その機能によってミネラルの代謝と骨組

織のリモデリングに関与している。この骨吸収能は破骨細胞の細胞形態と密接に関連して営まれている。即ち骨基質に面する細胞膜が刷子縁と呼ばれる構造に特殊化し、また、その周囲を取り巻く透明帯の形成によって骨表面に密閉空間を形成し、細胞外にあたかも細胞内小器官の水解小体内部の様な環境を作り出している。また、活発に細胞移動を行いながら骨表層を吸収する。走査電子顕微鏡で見ると、破骨細胞が複数の偽足を延ばし、また細胞体も伸長し、活発に移動しながら骨吸収を行っている事が判る。(図1)

この様な破骨細胞の骨吸収能は生理的にはカルシウム代謝と骨組織のリモデリングという両面から調節を受けている。カルシウム代謝に関与するカルシトニン、副甲状腺ホルモン、活性型ビタミンD<sub>3</sub>などのホルモンによって破骨細胞の機能もある程度は調節を受けるが、生理的な条件下ではカルシトニンがカルシウム代謝に果たす役割は大きくはないと考えられている<sup>4)</sup>。一方、骨組織のリモデリングは骨芽細胞による骨形成とのカップリングが重要であるが、骨吸収を行う場所の選択機構と吸収量の調節機構、および吸収量と同量の骨形成を行う機構などは不明である。生理的条件下では調節の主役は骨芽細胞あるいは骨細胞にあると考えられているが、病変部では生理的な調節機構とは別の経路からも破骨細胞の機能亢進や抑制が生じていると考えられる。しかし、現時点ではこれらの破骨細胞の機能調節機構に関する知見は断片的なものであるにすぎない。

破骨細胞の形態は機能と密接な関連を有するにも関わらず、骨という硬組織の表面に存在する事から、形態を定性的、定量的に観察することが困難であり、こ

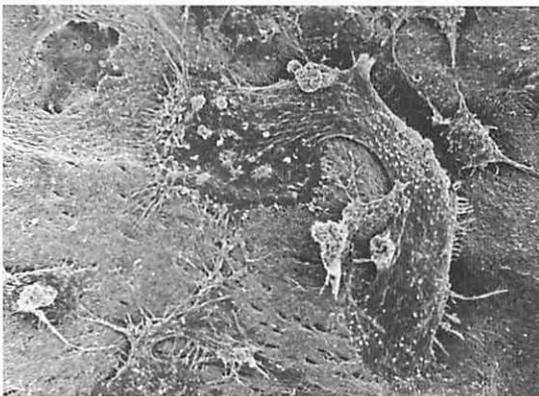


図1 : Scanning electron microscopic figure of osteoclast on a rat calvarium surface. (original x1000)

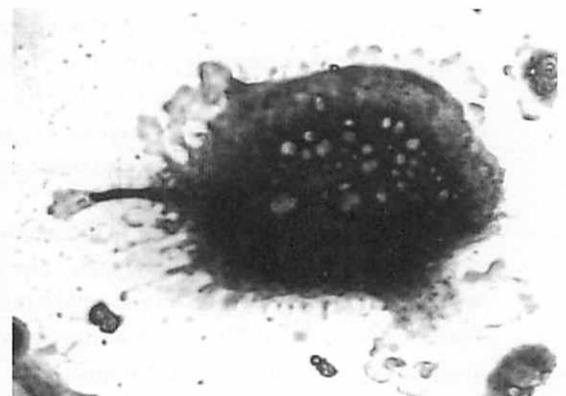


図2 : Cultured osteoclast on plastic dish derived from mouse bone marrow culture. (original x40)

れまでに蓄積された組織所見は乏しく、多くは培養系での知見である。また、マウス骨髄組織由来の細胞の混合培養によって得られた破骨細胞では、シャーレ上で細胞体が大きく広がり、全周にわたって多数の偽足の伸長が見られ、組織上で見られる形態とは大きく異なる(図2)。また、破骨細胞は骨表面で活発に骨吸収を行っている時には比較的安定しやすいが、吸収窩を形成していない場合や骨表面から離れた場合は形態的特徴を失う事から、破骨細胞の消長に関する知見も乏しい現状である。

### Ⅲ. 大理石骨病における破骨細胞

#### A. 大理石骨病

大理石骨病は破骨細胞の機能不全によって生じる骨系統疾患で、組織変化としては骨硬化が主な所見である。破骨細胞の機能である骨吸収が阻害され、骨のリモデリングに異常が生じ、骨は硬化しているにも関わらず脆弱で、易骨折性である。臨床的にはその他に骨髄機能不全(貧血、出血傾向など)や脳神経麻痺が見られるが、これらの症状も骨のリモデリングの異常によって骨髄腔が閉塞され、造血の場が縮小する事や頭蓋底の脳神経孔が狭小化する事によって生じる。大理石骨病は通常、早期発症型(常染色体劣性遺伝)、遅延発症型(常染色体優性遺伝)、中間型(常染色体劣性遺伝)、腎尿管管性アシドーシスを伴う型(常染色体劣性)の4型に分類されるが<sup>5)</sup>、これらの各型は遺伝様式も異なり、それぞれ異なる疾患単位と考えられ、従って大理石骨病は一つの疾患群としてとらえるべきである。

原因遺伝子については腎尿管管性アシドーシスを伴う型では、破骨細胞の骨吸収、脱灰に必要なプロトンの産生に関わる炭酸脱水素酵素Ⅱの欠損が知られている<sup>6)</sup>。早期発症型の一部の症例では破骨細胞のH<sup>+</sup>-ATPaseの $\alpha 3$ サブユニットに変異が見いだされている<sup>7)</sup>。これと同様の遺伝子変異はマウスにおける大理石骨病の自然発症モデルであるocマウスにも見られている<sup>8)</sup>。一方、最近、エンドソームやライソソーム膜の塩素イオンチャンネルの一つをコードしているCLCN7遺伝子に変異が見いだされ<sup>9)</sup>、同じ早期発症型でも異なった遺伝子の変異が見られる。さらに、破骨細胞の骨吸収機能に重要な働きをされると考えられているカテプシンKに異常があると濃化骨異骨症が生じる<sup>10)</sup>。

遅延発症型はX線所見の違いから更に二型が亜分類されているが<sup>11)</sup>、原因遺伝子は不明である<sup>12)</sup>。この

型は致死性である早期発症型とは異なり、成人期になって多発骨折などによって気付かれる事が多く、また、顎骨骨髄炎を併発することも多い。

遺伝子異常の検索には多数の症例を用いた家系調査によるアプローチが一般的であるが、発症頻度が少ない疾患では困難であり、機能異常の検索から推定される遺伝子にアプローチする事が必要である。しかし、ヒトの場合、一般に*in vitro*における機能異常の検索は容易では無く、各症例における詳細な組織形態の観察から機能異常を推定する事が重要になる。一方、破骨細胞の機能である骨吸収の異常を形態学的に捉えるためには、非脱灰標本による観察が欠かせないが、非脱灰標本作製の技術的困難性から、これまでに蓄積された所見は乏しいと云わざるを得ない。以下に自験例の遅延発症型 Type II 大理石骨病における所見について述べる。

#### B. 遅延発症型大理石骨病における破骨細胞

下顎骨骨髄炎の為に顎骨部分切除がなされた症例であるが、炎症巣の周辺部では大理石骨病に典型的な骨硬化性の組織像を呈していた<sup>13)</sup>。非脱灰標本を用いた微小軟X線による石灰化度の解析ではセメント線における高石灰化が見られ、免疫組織化学ではセメント線に一致してオステオカルシンの沈着が見られる。さらに、電子顕微鏡によるセメント線の観察では層板状を呈する不定形基質が見られ、正常な膠原線維は見られない<sup>13)</sup>。

一方、破骨細胞はその大きさが極めて大きくなり、

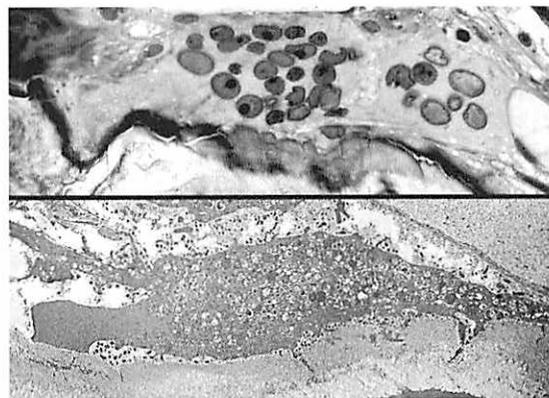


図3 : Up: large abnormal osteoclast by undecalcified preparation (original x40), Low: electron microscopic figure of abnormal osteoclast showing obvious clear zone and deficient in ruffled border formation. (original x1000)<sup>13)</sup>

細胞数の増加も著しい。これは破骨細胞の機能低下に対する代償性的変化であると考えられる。電子顕微鏡的には骨基質に面した破骨細胞の細胞膜では透明帯の形成とその部分での骨基質表面への接着は認められるものの、刷子縁の形成が不十分で、細胞突起も乏しい。細胞質には多数の水解小体が見られ、細胞内小器官を含んだものも見られる(図3)<sup>13)</sup>。

非脱灰染色標本で破骨細胞直下の骨基質を見ると、周囲の骨基質に比べ過染色性を呈し、過剰な脱灰が生じている事が判る。一方、破骨細胞が存在しない骨吸収面や、その後に骨形成が生じて内部に位置する吸収面、即ちセメント線では、より石灰化度が高くなっている。これらの所見は破骨細胞の脱灰能に異常があるというより、脱灰後の基質吸収に異常がある事を示唆している。電子顕微鏡所見でも破骨細胞直下の骨基質表面にはセメント線で見られた不定形基質の中に細線維状に断片化した膠原線維も見られる<sup>13)</sup>。

さらに、リモデリングに伴って形成された骨も正常な層板構造を示さず、骨吸収面に異常な膠原線維束が形成されており、骨形成の異常も見られた。これは破骨細胞の基質吸収機能の異常により、破骨細胞が骨表面に長く留まる様になり、過剰な脱灰が生じ、リモデリングに際して骨吸収に引き続いて生じる骨芽細胞による骨形成の場になるセメント線の形成異常と石灰化異常が生じ、骨形成にも異常が生じるものと考えられる。

### C. 炎症巣での所見

一方、下顎骨骨髓炎の病巣中心部では著しい炎症性細胞浸潤と骨吸収が見られた。炎症巣での破骨細胞の形態は上述の様な周辺部のものとは異なり、ほぼ正常の大きさで、刷子縁の形成や吸収窩の形成も見られた<sup>13)</sup>。即ち炎症巣では破骨細胞の形態と機能が正常に回復している事を示唆している。従ってこの症例における遺伝子異常は基質吸収機能の調節に関与する部分に存在する可能性があり、他のシグナル経路からのクロストークによって代償され得るものとも考えられる。さらに、この事は破骨細胞の機能と形態は密接に統御されていること、また、破骨細胞の機能は局所の微小環境によって調節されていることを示唆している。炎症巣という異常な環境下ではあるが、遺伝的に異常な破骨細胞の機能と形態が回復するという事は、遅延発症型大理石骨病に対する対症療法を考える際にも重要な示唆を与えていると考えられる。

さらに、未解明であるリモデリング時のカップリン

グ因子についても、炎症性サイトカインのシグナル経路とのクロストークを視野に入れた微小環境との関係について検討する必要があると考えられる。

## IV. 歯肉癌の顎骨浸潤に伴う破骨細胞の活性化

### A. 腫瘍の骨浸潤と骨代謝動態の解析

腫瘍の骨浸潤には骨破壊、吸収機能を有する破骨細胞の関与が重要であり、その機能の調節機構の解明は腫瘍の進展制御という観点からも重要である。破骨細胞の機能を賦活化する炎症性サイトカインなどと同様の因子を腫瘍細胞が産生する事が報告されているが<sup>14)</sup>、全身性の腫瘍随伴症候群としての高カルシウム血症を引き起こす因子(PTHrPなど)との関連など、不明な点も多い<sup>15)</sup>。また、破骨細胞の骨吸収能を抑制するカルシトニンの投与や骨吸収抑制効果が知られているビスフォスフォネートの応用が試みられているが<sup>16)</sup>、未だ不明な点が多い。

腫瘍の浸潤によって骨は破壊・吸収されるが、骨組織には反応性の骨形成も生じる為、骨組織における変化は生理的なりモデリングの変容として考える事もできる。骨形態計測法は個体における骨代謝環境を評価するために腸骨の比較的小さな生検材料を用い、主に海綿骨についての計測が最も良く行われている<sup>17)</sup>。一方、病変部における計測は計測部位の偏りを排除するために、比較的大きな標本で多数の部位を計測する必要がある。しかし、骨形態計測に耐えうる非脱灰大割標本の作製が困難である事から、病変部における骨形態計測を試みた研究は少ない。今回は重合収縮が比較

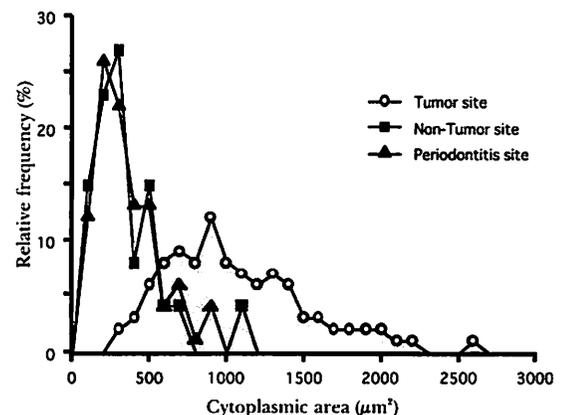


図4: Relative frequency distribution of osteoclast cytoplasmic area.<sup>13)</sup>

の少ないポリエステル系レジン（リゴラック）を用い、また緻密で硬い歯牙や皮質骨を含む顎骨の標本を作製する為に研磨標本作製法を改良し<sup>18)</sup>、顎骨に浸潤した歯肉癌症例における破骨細胞について、その形態と骨組織の変化を骨形態計測法を用いて解析した<sup>19)</sup>。

## B. 歯肉癌顎骨浸潤部の破骨細胞

破骨細胞の大きさは *in vitro* ではその活性度と相関すると考えられているが、生体内での計測はほとんど試みられていない。切片上の断面での計測はばらつきが大きいと考えられるからである。従って多数の計測結果を統計的に見る必要がある。しかし、実際に細胞核を含む断面での胞体の大きさの計測結果は非腫瘍部や慢性炎症部では予想外に均一であり、それに対して腫瘍部では有意に大きく、その分布は幅広い（図4）<sup>19)</sup>。一方、破骨細胞はその前駆細胞の細胞融合によって形成されると考えられているので、大きさと細胞核数の比率を見ると非腫瘍部や慢性炎症部では、細胞核の一個当たりの面積はほぼ一定であるのに対して、癌浸潤部ではその面積は大きく、核数の増加に伴い核一個当たりの面積も増加している<sup>19)</sup>。この事は腫瘍部では破骨細胞の大きさの増大は単に細胞融合によるだけでなく、機能の亢進に伴い大きくなっていることを示唆している。

全身的な因子によるリモデリング亢進時の骨吸収増加は破骨細胞数の増加によるが、癌浸潤部や急性炎症部などの病変部では細胞数の増加に加え、成熟した破骨細胞の大きさを増大させ、機能亢進をもたらす微小環境因子があるものと考えられる（図5）<sup>19)</sup>。



図5：Histological appearance of osteoclastic bone resorption mediated by invading carcinoma (C). (original x 40)<sup>19)</sup>

## C. 癌浸潤部の骨代謝動態の解析

歯肉癌（扁平上皮癌）に対する治療（化学療法と放射線療法）の効果を下里・大星による判定基準<sup>20)</sup>に基づいて組織学的に検索し、一方、各症例の癌浸潤部、非癌部の骨代謝状況を骨形態計測の手法<sup>21)</sup>で評価した。

検索した症例全体で見ると癌浸潤部では非腫瘍部に比較して、骨吸収のパラメータの値が著明に増大し、骨形成のパラメータは減少していた<sup>19)</sup>。一般に骨吸収が生じるとリモデリングにおける骨芽細胞とのカップリング機構によって骨形成も増大するが、癌浸潤部では骨吸収が一方向的に亢進し、骨形成と逆相関を示し、正常のカップリング機構が抑制されているものと考えられる。

このアンカップリングの状態について、更に個々の症例の治療方法（特に放射線治療）と治療効果について検討してみると、癌浸潤部では治療効果が低い症例、即ち癌細胞の活性が高いと考えられる症例では、治療効果が低い症例に比べて骨吸収が亢進しており<sup>19)</sup>、癌細胞の活性度と骨吸収には直接的な関係がある事が解る。一方、骨形成のパラメータは癌浸潤部では治療効果が低い症例では有意に抑制されていた。しかし、形態学的には癌浸潤部でも骨形成は少ないながらも見る事ができ、癌細胞の直接的な骨形成抑制機構を考えるより、破骨細胞の活性化の亢進とともに活性化の維持、継続による効果が大きいと考えている。腫瘍随伴症候群としてみられる高カルシウム血症の症例ではアンカップリングが報告されているが<sup>22)</sup>、検索した症例では癌による全身的な高カルシウム血症は見られておらず、非腫瘍部での骨代謝パラメータにも変動は見られない。従って癌浸潤部での微小環境が破骨細胞の活性化とその維持をもたらしているものと考えられる。その機構としてはアポトーシスの抑制が考えられるが、具体的な知見は得られていない。

## D. 治療方法による骨代謝動態の差異

更に放射線治療の有無により、このような癌の治療効果と骨代謝パラメータの関係について検索すると、癌浸潤部では放射線治療を受けた症例の方が、放射線治療を受けていない症例に比べて骨吸収が有意に低下し、癌の治療効果が高い症例群と同程度になっていた<sup>19)</sup>。一方、骨形成については、有意差は見られない。また、非腫瘍部ではこのような治療内容の違いと骨代謝パラメータに関して差異は見られない。この放射線治療の有無と癌治療効果の間には有意な相関は見られていない<sup>19)</sup>。従って放射線治療を受けた症例の癌浸潤部における骨

吸収の低下は癌細胞による破骨細胞の活性化が抑制された為ではなく、放射線の破骨細胞に対する直接的な作用と考えられる。今回は放射線の破骨細胞への直接作用が、どのような機構で生じるのかについては検索していないが、破骨細胞のアポトーシスの促進作用についての検討が今後必要であろう。

この様に癌の骨浸潤における破骨細胞の活性化は癌細胞の活性化と密接な関係があり、特に成熟した破骨細胞を活性化し、その胞体の大きさを増大させる様な局所因子を癌細胞が産生しているものと考えられる。これまでに炎症性サイトカイン、プロスタグランジンなど様々な因子が提案されているが<sup>23)</sup>、破骨細胞の形成を促進するだけでなく、成熟した破骨細胞の機能を調節する因子は未だ不明である<sup>24)</sup>。また、通常の放射線治療によって破骨細胞が直接影響を受け、骨吸収の抑制に寄与している事が示唆されたが、長期間の放射線治療はかえって骨吸収を促進したとの報告もある。癌そのものの治療は当然癌による破骨細胞の活性化機序を抑制し、骨浸潤の抑制にもつながるが、歯肉癌など骨浸潤を来し易い場合には破骨細胞の機能を直接抑制する治療も考慮すべきで、成熟破骨細胞の機能調節機序の解明が必要である。

#### E. 癌の顎骨浸潤に付随して見られた所見

口腔癌の顎骨浸潤に付随して見られた破骨細胞に関連して注目すべき所見について付記しておく。進行した顎骨浸潤癌のX線所見として floating tooth が知られている。これは癌の浸潤に伴って骨吸収が顕著であるにもかかわらず歯根吸収がほとんど生じない為に癌組織中に歯牙が浮かんでいるように見える。組織学的にも歯根吸収を引き起こすいわゆる破骨細胞がほとんど見られない。この事は破骨細胞の発生と活性化の機構が破骨細胞とは異なっている事を示している。生理的、病的歯根吸収を引き起こす破骨細胞の発生と活性化には歯根膜組織が微小環境として重要な役割を果たしていると推測されるが、今後破骨細胞および破骨細胞の発生・分化、活性化を調節する微小環境の解明に際して重要な視点と考えられる。

#### V. 骨髄炎・関節炎の動物モデルにおける骨病変

炎症性骨吸収の主体は破骨細胞であり、特に急性炎症時に骨吸収が進行する事は辺縁性歯周組織炎の経過でも知られている。しかし、急性炎症時の組織採取は人体例では困難であり、形態学的知見を得る機会が少ない。一方、慢性炎症では組織像は病変によって多彩

であり、炎症性骨吸収の一般的なモデルを得る事は困難である。ここでは炎症性骨吸収における破骨細胞の役割を考える例として、きわめて特異的な炎症を引き起こす動物モデルの一例を取りあげる。

#### A. 動物系統に特異的な炎症モデル

結核菌の菌体成分が buffalo rat という系統にのみ特異的な骨髄炎、関節炎を引き起こし<sup>25)</sup>、その有効な菌体成分が Wax D であると言う事を見いだした<sup>26)</sup>。この際に見られる骨の炎症は、菌体成分の一回の皮下注射によって惹起され、その後持続性、進行性に継続する。注射部位である足底部に近接する趾骨、中足骨、足根骨などの骨髄炎と各関節を巻き込んだ病変を形成し、やがて既存の骨形態が失われ、著明な骨形成を伴い、足関節から遠位部が一塊となる特異的な骨病変となる<sup>26)</sup>。このような炎症の発症機序の解明が待たれるが、持続する骨の炎症モデルとして骨の多彩な変化を観察する事が出来る。

#### B. 炎症巣における破骨細胞の活性化

この炎症モデルでは、初期には膿瘍形成に伴う既存骨の破骨細胞性骨吸収が見られ、病変の進行とともに関節軟骨の破軟骨細胞による破壊、骨髄炎に伴う骨破壊などが見られる。更に、炎症が持続し、既存の足底部の組織が全く失われて、肉芽組織が継続的に増殖し、その中に骨新生と骨吸収が繰り返される。齧歯類の正常骨組織では単核で、比較的小型の破骨細胞を見る事が多いが、この様に持続する炎症巣の中に見られる破骨細胞は多核で、胞体は大型化している。また、この炎症巣では骨表面に破骨細胞が存在するだけではなく、

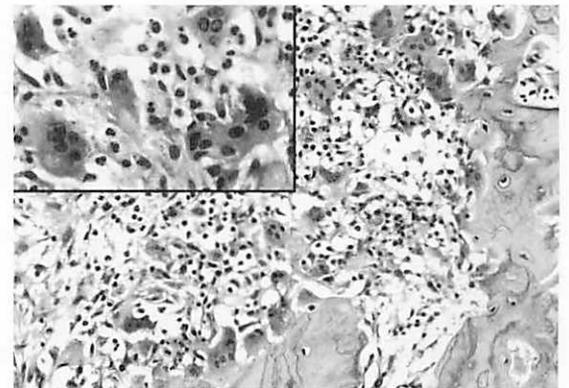


図6：A lot of large sized osteoclasts in inflammatory lesion. insert: osteoclasts detached from bone surface. (original x40)

骨表面から離れて存在するものも多数見られる (図6)。その様な細胞は多核のマクロファージと区別することは形態的には困難であるが、骨表面に存在する細胞と連続的に存在しており、骨表面から遊離してもその形態を保っているものと考えられる。

一般に破骨細胞は骨表面から離れるとその形態的な特徴を失い、おそらくアポトーシスによって細胞死に至り、破骨細胞数の調節がなされていると考えられる。しかし、この破骨細胞の細胞死に関する知見は乏しく、その調節機構も明らかではない。*in vitro*では破骨細胞の延命因子の解析が試みられているが、破骨細胞活性化の調節機構との関係も含めて未だ不明である。この様な持続性炎症モデルを用いて、破骨細胞におけるアポトーシスの機序と炎症性の破骨細胞活性化機序に関する微小環境因子を明らかにできる可能性がある。

## VI. おわりに

本稿では破骨細胞に関するこれまでの歴史的研究を概観するというより、様々な病変における破骨細胞の形態学的な所見を中心に、その形態と機能を微小環境との関連について考察し、今後解明されるべき問題点を指摘した。

病変部では破骨細胞は生理的な機能時とは異なり、その形態と機能が大きく変化する。その変化は全身性の因子よりも主に局所組織の微小環境によって左右されているものと考えられる。また、特異な分化を遂げたと考えられる破骨細胞は歯根膜組織という微小環境でのみ形成される可能性もある。今後、この様な破骨細胞の発生、機能調節、アポトーシスなどを調節する局所の微小環境因子の解明が必要であり、その様な機構を踏まえた種々の治療方法が開発される事が期待される。

また、本稿では全身性の因子が重要な役割を果たす内分泌異常や腎疾患に伴う骨病変、腫瘍随伴症候群としての高カルシウム血症における破骨細胞の形態と機能などについては触れなかった。破骨細胞の機能を調節する微小環境を考える際に全身性因子との関係を考慮しなければならぬ事は論をまたないが、その点については別稿にゆずる。

## 文献

- 1) Udagawa, N., Takahashi, N., Akatsu, T., Tanaka, H., Sasaki, T., Nishihara, T., Koga, T., Martin, T. J. & Suda, T.: Origin of osteoclasts: mature monocytes and macrophages are capable of differentiating into osteoclasts under a suitable microenvironment prepared by bone marrow-derived stromal cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 7260-7264, 1990
- 2) Yasuda, H., Shima, N., Nakagawa, N., Yamaguchi, K., Kinosaki, M., Mochizuki, S., Tomoyasu, A., Yano, K., Goto, M. & Murakami, A.: Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 3597-3602, 1998
- 3) Komori, T., Yagi, H., Nomura, S., Yamaguchi, A., Sasaki, K., Deguchi, K., Shimizu, Y., Bronson, R. T., Gao, Y. H., Inada, M., Sato, M., Okamoto, R., Kitamura, Y., Yoshiki, S. & Kishimoto, T.: Targeted disruption of *Cbfa1* results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell*, 89, 755-764, 1997
- 4) Sage, J. M., Pond, W. G., Krook, L., O'Connor, J., Walker, E. F. Jr.: Bone metabolism in thyroidectomized young pigs. *Cornell. Vet.*, 59, 547-549, 1969
- 5) Shapiro, F.: Osteopetrosis. *Current clinical considerations. Clin. Orthop. Rel. Res.*, 294, 34-44, 1993
- 6) Sly, W. S., Hewett-Emmet, D., Whyte, M. P., Yu, Y-S. L. & Tashian, R. E.: Carbonic anhydrase II deficiency identified as the primary defect in the autosomal recessive syndrome of osteopetrosis with renal tubular acidosis and cerebral calcification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80, 2752-2756, 1983
- 7) Frattini, A., Orchard, P. J., Sobacchi, C., Giliani, S., Abinun, M., Mattsson, J. P., Keeling, D. J., Anderson, A. K., Wallbrandt, P., Zecca, L., Notarangelo, L. D., Vezzoni, P. & Villa, A.: Defects in TCIRG1 subunit of the vacuolar proton pump are responsible for a subset of human autosomal recessive osteopetrosis. *Nat. Genet.*, 25, 343-346, 2000
- 8) Scimeca, J. C., Franchi, A., Trojani, C., Parrinello, H., Grosgeorge, J., Robert, C., Jaillon, O., Poirier, C., Gaudray, P. & Carle, G. F.: The gene encoding the mouse homologue of the human osteoclast-

- specific 116-kDa V-ATPase subunit bears a deletion in osteosclerotic (oc/oc) mutants. *Bone*, 26, 207-213, 2000
- 9) Kornak, U., Kasper, D., Bosl, M. R., Kaiser, E., Schweizer, M., Schulz, A., Friedrich, W., Delling, G. & Jentsch, T. J.: Loss of the CIC-7 chloride channel leads to osteopetrosis in mice and man. *Cell*, 104, 205-215, 2001
  - 10) Gelb, B. D., Shi, G. P., Chapman, H. A. & Desnick, R. J.: Pycnodysostosis a lysosomal disease caused by cathepsin K deficiency. *Science*, 273, 1236-1238, 1996
  - 11) Anderson, P. E., & Bollerslev, J.: Heterogeneity of autosomal dominant osteopetrosis. *Radiol.*, 164, 223-225, 1987
  - 12) Lian, J. B., Dunn, K. & Key, L.: In vitro degradation of bone particles by human monocytes is decreased with depletion of the vitamin K-dependent bone protein from the matrix. *Endocrinol.*, 118, 1636-1642, 1986
  - 13) Semba, I., Ishigami, T., Sugihara, K. & Kitano, M.: Higher osteoclastic demineralization and highly mineralized cement lines with osteocalcin deposition in a mandibular cortical bone of autosomal dominant osteopetrosis type II : ultrastructural and undecalcified histological investigations. *Bone*, 27, 389-395, 2000
  - 14) Mundy, G. R.: Mechanisms of osteolytic bone destruction. *Bone*, 12, S1-6, 1991
  - 15) Barendolts, E., Buschmann, R., Shavrin, D. H. , Abramson, E. C., Kukreja, S. C.: Effects of hypercalcemia-producing tumor extract and parathyroid hormone on osteoclast ultrastructure. *Acta Anat.*, 137, 160-164, 1990
  - 16) Yates, A. J., Oreffo R. O. C., Mayor K., & Mundy G. R.: Inhibition of bone resorption by inorganic phosphate is mediated by both reduced osteoclast formation and decreased activity of mature osteoclasts. *J. Bone Min. Res.*, 6, 473-8, 1991
  - 17) Eriksen, E. F., Axelrod, D. W. & Melsen, Flemming. Chap. 9, Bone remodeling in metabolic bone disease., In; *Bone histomorphometry.*, 51-67, Raven press, New York, 1994
  - 18) 仙波伊知郎：手術硬組織材料のマクロ非脱灰研磨標本の作製法と解析；骨・歯牙組織の病理検査法と研究技術の実際，永井教之編，学際企画，東京，1991
  - 19) Semba, I., Matsuuchi, H. & Miura, Y.: Histomorphometric analysis of osteoclastic resorption in bone directly invaded by gingival squamous cell carcinoma. *J. Oral Pathol. Med.*, 25, 429-435. 1996
  - 20) Shimosato, Y., Oboshi, S. & Baba, K.: Histological evaluation of effects of radiotherapy and chemotherapy for carcinomas. *Jap. J. Clin. Oncol.*, 1, 19-35, 1971
  - 21) Parfitt, A. M., Drezner, M. K., & Glorieux, F. H.: Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. *J. Bone Mineral Res.*, 2, 595-610, 1987
  - 22) Kukreja, S. C., Rosol, T. J., Shevrin, D. H. & York, P.: Quantitative bone histomorphometry in nude mice bearing a human squamous cell lung cancer. *J. Bone Mineral Res.*, 3, 341-6, 1988
  - 23) Todd, R., Chou, M. Y., Matossian, K., Gallagher, G. T., Donoff, R. B. & Wong, D. T. W. : Cellular sources of transforming growth factor-alpha in human oral cancer. *J. Dent Res.*, 70, 917-23, 1991
  - 24) Dyess, C. L., Carter, D., Kirchner, J. A. & Baron, R. E.: A morphometric comparison of the changes in the laryngeal skeleton associated with invasion by tumor and by external-beam radiation. *Cancer*, 59, 1117-22, 1987
  - 25) Ishizuki, S., Kanda, N., Kaneta, S & Fujihira, E.: Progressive foot swelling in BUF rats. A new animal model for screening of anti-inflammatory and anti-rheumatic drugs. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 271, 303-314, 1984
  - 26) Kawabata, Y., Semba, I., Hirayama, Y., Koga, T., Nagao, S. & Takada, H.: Wax D of mycobacterium tuberculosis induced osteomyelitis accompanied by reactive bone formation in buffalo rats. *FEMS Immun. Med. Microbiol.*, 22, 293-302, 1998

# エナメル質形成の細胞生物学

田畑 純

鹿児島大学歯学部口腔解剖学第1講座

## Cell Biology of Amelogenesis

Makoto J. Tabata

Department of Oral Anatomy, 1st division,  
Kagoshima University Dental School,  
8-35-1, Sakuragaoka, Kagoshima, 890-8544, Japan

### Abstract

In this review, the basic descriptions and recent topics of amelogenesis were summarized. At the first, special features of enamel are described comparing with dentin, cement and bone. Secondary, enamel formation and ameloblast differentiation are summarized. Enamel formation is classified to 6 stages, and all stages are applied to each staged ameloblast. Tertiary, cell lineage in tooth germ is reviewed. Finally, the roles of growth factors in tooth germ are discussed.

**Keywords:** amelogenesis, ameloblast differentiation, tooth development, growth factors

### I. はじめに

エナメル質形成の研究には、結晶学及び蛋白質化学的にアプローチする「エナメル質の研究」と細胞及び発生生物学的にアプローチする「エナメル芽細胞の研究」という二つの潮流がある。これら二つの潮流はそれぞれで盛んな研究がなされているが、アプローチが違いすぎるためかその一致を見ることがしばしば難しい。また、後者の流れの中においても、「器官レベルでの理解」と「細胞レベルでの理解」が十分に噛み合っていないのが現状でもある。本稿ではこうした状況を踏まえつつ、細胞研究の立場からエナメル質形成を紹介してみたい。

### II. エナメル質の特徴

人体を構成する硬組織には、エナメル質、象牙質、セメント質、骨の4つがあり、いずれもハイドロキシアパタイトを主成分とする。しかし、ハイドロキシアパタイトの濃度や含有する蛋白質成分の違い、石灰化の様式の違いなどから硬度に差が出てきて、エナメル質>象牙質>セメント質・骨の順となっている(表1)。すなわち硬組織の中ではエナメル質は最も硬く、その特徴は次のようにまとめることができる<sup>1-4)</sup>。

(1) 一般の硬組織はハイドロキシアパタイトとI型コラーゲンを主成分とするが、エナメル質の場合、ハ

表1. 硬組織の比較

		エナメル質	象牙質	セメント質	骨
物理性質	モース硬度	6-8° (石英程度)	5° (オパール程度)	4° (蛍石・サンゴ程度)	
	比重	2.88	2.16	1.96	
成分	無機質	95-97% (主にハイドロキシアパタイト)	65-70% (主にハイドロキシアパタイト)	60-65% (主にハイドロキシアパタイト)	
	有機質	0.7-1% (主にエナメル蛋白質)	20% (主にI型コラーゲン)	25% (主にI型コラーゲン)	
	水	2%	10-15%	10-15%	
形成細胞		エナメル芽細胞 (上皮)	象牙芽細胞 (間葉)	セメント芽細胞 (間葉)	骨細胞・骨芽細胞 (間葉)
石灰化の細胞構造		トームス突起	象牙細管	セメント細管	骨細管
石灰化の構造単位		エナメル小柱	(球状/層状)	(層状)	ハヴァース系

イドロキシアパタイトとエナメル蛋白質からなる。この含有蛋白成分の違い、つまりI型コラーゲンかエナメル蛋白質かという違いは、一般の硬組織が間葉細胞から、エナメル質が上皮細胞から形成されることと符合している。

- (2) エナメル蛋白質はエナメル質の成熟過程において脱却されることが知られており、最初25-30%であったものが最終的には0.7-1.0%と含有率がきわめて低下する。すなわち、無機質(=ほとんどがハイドロキシアパタイト)の割合がその分増えて最終的に97%ときわめて高濃度になる。また、ハイドロキシアパタイト結晶のサイズは、エナメル質では極端に大きく、個々の結晶同士には配向性も見られる。こうした結果としてエナメル質が体組織中でもっとも高い硬度を持つようになる。
- (3) エナメル質のハイドロキシアパタイト結晶の成長は、骨などで見られる成長様式とは違い“結晶の核”を必要としない。すなわち、超微細形態学的観察でも結晶の核にあたる構造がこれまで報告されておらず、また無細胞系でも結晶成長が始まることが報告されている。結晶の前駆物質としては、いくつか候補があげられているが、オクタカルシウム磷酸(OCP)がその有力候補である<sup>3)</sup>。
- (4) ハイドロキシアパタイト結晶はエナメル小柱と呼ばれる小柱構造を構成するが、これは小柱鞘という鞘構造の中に多数の結晶が配向性を持って集積され

る結果である。また、多数のエナメル小柱が整然と並んでエナメル質の層を形成するが、その小柱どうしは一定間隔で相互にねじれて並んでおり(=ツイストしている)、研磨切片から作成した印象標本などでハンターシュレーゲル条として観察される。こうした小柱鞘の内部構造や並び方は、歯冠の複雑な凹凸に対応した構造であると考えると理解しやすい。

(5) エナメル質は、基質形成期のエナメル芽細胞によって細胞外で作られる。エナメル質の蛋白質は、アメロジェニン、エナメルリン、エナメル小柱鞘蛋白、の3つに分類されるが、いずれもエナメル質に固有のもので、エナメル質形成に必要なはたらきを持つものと考えられている<sup>4)</sup>。

### Ⅲ. エナメル質形成と細胞分化

エナメル質形成の段階は、エナメル質の合成・成熟過程とエナメル芽細胞の増殖・分化段階から総合して次の6段階に分けられる<sup>5)</sup>(表2)。

- (1) 細胞増殖期：内エナメル芽細胞が盛んに増殖。
- (2) 細胞分化期：内エナメル芽細胞が分化しはじめる。
- (3) 基質形成期(分泌期)：チーズ状エナメル質が分泌される。
- (4) 移行期：チーズ状エナメル質の分泌が止まり、細胞形態が変わる。



- (5) 成熟期：エナメル質の硬化・成熟の過程。  
 (6) 退縮期：エナメル質が完成し、細胞が退縮。

それぞれの段階に対応する細胞は、内エナメル上皮—前エナメル芽細胞—形成期（分泌期）エナメル芽細胞—移行期エナメル芽細胞—成熟期エナメル芽細胞—退縮エナメル芽細胞と呼ばれ、いずれも内エナメル上皮から分化したひと続きの細胞系列にある。エナメル質は基質形成期に形成されるが、この時期のエナメル質はチーズ状エナメル *cheesy enamel* と呼ばれる柔らかいエナメル質（無機質70%、有機質30%）であり、エナメル質は最初から硬いわけではない。エナメル質の硬化が行われるのは成熟期であり、エナメル蛋白質の自動的な分解と成熟期エナメル芽細胞による水と蛋白分解産物の脱却による。すなわち、有機物や水の再吸収がハイドロキシアパタイトを高濃度化し、結晶化を促すのである。エナメル蛋白質の自動的な分解は、アミノジェニンやエナメリンの段階的な低分子化によって示されており、基質形成期において、チーズ状エナメル質の中に分泌された蛋白分解酵素の働きによると考えられている。

#### IV. 歯胚発生と細胞分化

歯胚の分化段階は、開始期—蕾状期—帽状期—鐘状期—歯根形成期と進み、歯胚を構成する細胞群の分化段階もそれに応じて変化する。最初は細胞の種類が少なく単純な構成であったものが、多数の種類からなる複雑な構成を持つようになるのであるが、これを細胞の分化段階に注目してまとめると図1のようになる。また、現在までの主な知見をまとめると次のようになる。

- (1) エナメル芽細胞の細胞系列には幹細胞がある。この細胞はやや分裂活性が低いのだが、分裂活性の高い娘細胞を経て、各種細胞へと分化する。この幹細胞の存在は、マウス切歯の頸係締（マウス切歯では特に *apical loop* と呼ぶ）の唇側部位にあることが発見された<sup>6-8)</sup>。通常の歯胚におけるエナメル上皮幹細胞は、歯冠形成期では頸係締 *cervical loop* に位置してエナメル器に多くの種類の細胞を供給する細胞であり、歯根形成期ではヘルトヴィッヒの上皮鞘となって歯根を形成する細胞となると考えられる（ただし、現時点ではエナメル幹細胞からヘルトヴィッヒの上皮鞘への分化については、直接の実験証拠は

ない）。エナメル幹細胞はマウス切歯においては常に存在し続けているが、このことは、マウス切歯が常生歯（＝常に生え続ける歯）であることを反映していると思われる。また、マウス切歯が無根歯であることを考慮に入れると幹細胞がヘルトヴィッヒの上皮とならず、いつまでも幼若な段階にとどまることが歯根形成の始まらない理由と考えてよいのではないだろうか？

- (2) 最近の幹細胞研究から考えると歯乳頭にも幹細胞があり、それはエナメル上皮幹細胞に近接して存在して、互いに幼若な状態を維持しあう“ニッチェ”を構成している可能性がある<sup>9)</sup>。この歯乳頭の幹細胞は実際にはまだ発見されていないが、象牙質形成細胞（歯乳頭細胞—前象牙芽細胞—象牙芽細胞）の起源となる細胞は必ず存在するはずである。
- (3) エナメル質形成に直接関わる細胞群は、内エナメル上皮細胞から始まり、前エナメル芽細胞、形成期エナメル芽細胞、成熟期エナメル芽細胞、退縮期エナメル芽細胞とされている。これらは形態的に明確な区別ができるが（表1）、培養下においては形態が不明確になりやすいのでマーカー分子が必要となる。内エナメル上皮の分化マーカーとして、*c-Met*, *K14*, *En3* などがある<sup>10)</sup>。
- (4) ヘルトヴィッヒの上皮鞘や、歯小嚢を構成する細胞の分化や由来は、現時点では不明の点が多い。歯根の培養法の確立と細胞マーカーの探索が急務と思われる。
- (5) 細胞分化は歯胚の中で一様に進むわけではない。すなわち部位によって分化の度合いに大きな差がある。例えば歯冠においては、将来の溝の部分では比較的長く細胞増殖が見られ、内エナメル上皮や歯乳頭細胞といった幼若な細胞分化段階のものが主であるが、将来の咬頭になる部分では増殖がいち早く止まって細胞が分化し、形成期エナメル芽細胞や象牙芽細胞が他の部位よりも早い時期から出現して硬組織形成が始まる。

#### V. さまざまな増殖因子の作用

一般に上皮細胞の細胞培養は難しい。組織から単離し培養してもなかなか増殖せず、分化がどんどん進んで最終分化し死滅していくことが通常だからである。逆に、間葉細胞は培養が容易であり、通常の培養条件下で盛んに増殖するが、その反面、分化が起こりにくいという性質がある。すなわち、単離培養すると上皮細胞は分化を、間葉細胞は増殖を続けようとする性質

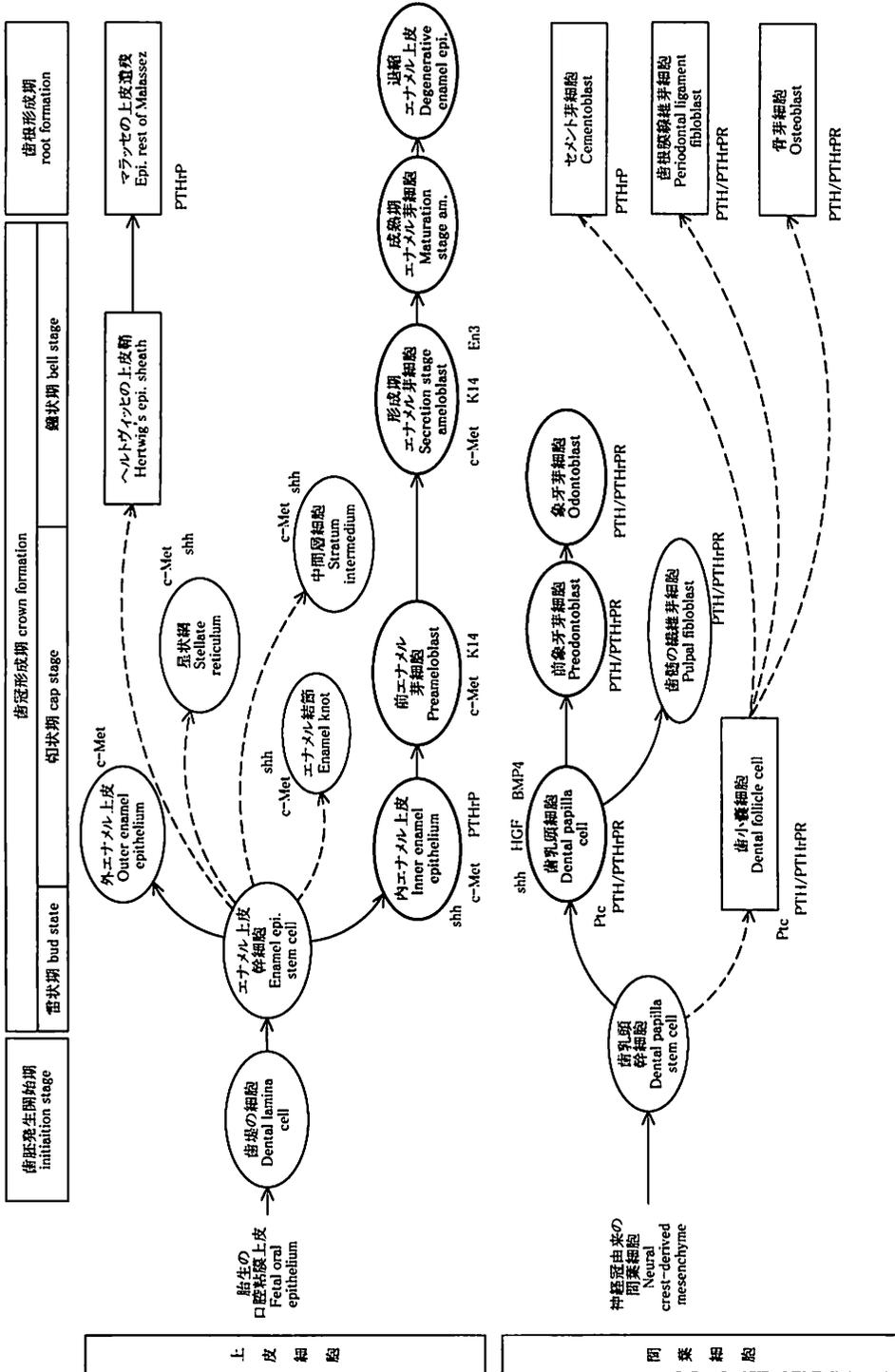


図1. 歯胚を構成する細胞群の細胞系譜 (推定)。楕円で囲んだ細胞のうち、強調表示のものは、上皮細胞がエナメル質を形成する細胞群、間葉細胞が象牙質を形成する細胞群である。四角で囲んだ細胞は、主として歯根形成に関わるものである。楕円や四角の外に本稿で紹介したそれぞれの細胞で発現している増殖因子、そのレセプター、細胞マーカーなどを付記している。破線は推定される系統を示す。

を示し、in vitroでの細胞分化の研究を難しくしている。ところが両者を共培養すると、上皮細胞の分化が抑制され、間葉細胞の増殖が抑制されることが知られている。これは上皮・間葉が近接することで相互作用が生じ、増殖と分化が互いに牽制されるようになることを意味する。歯胚の上皮・間葉においてもこうした傾向は同様であり、そこに介在する制御因子の実体解明こそが大きな課題のひとつとなっている。そこで近年の研究から判明しつつある増殖因子の例をあげてみたい。

### (1) 肝細胞増殖因子 (HGF)

肝細胞増殖因子 (Hepatocyte growth factor; HGF) は、ラットやヒトで肝細胞の増殖因子として発見されたが<sup>11-12)</sup>、その後、HGFは歯乳頭に、レセプターであるc-Metは内エナメル上皮に発現することが報告され、歯胚においても間葉から上皮に働く因子であることが予想された<sup>13)</sup>。そして、器官培養下のマウス臼歯歯胚に対してHGFの発現をアンチセンス法で阻害する実験から<sup>14)</sup>、HGFは歯胚上皮の増殖を促進する因子であることが示された<sup>15)</sup>。さらにラットのエナメル芽細胞系列の初代細胞培養を行い<sup>16-17)</sup>、HGFの歯胚上皮細胞に対する効果を調べたところ、細胞遊走活性と増殖活性の増加が見られた<sup>18)</sup>。歯胚におけるHGFの発現は、初期においては歯乳頭全体で、後にだんだん部位が縮小し、鐘状期以降においては将来の溝の部分にのみ、限局するようになる。この発現部位に隣接する内エナメル上皮の部位は、常に未熟な分化段階の細胞であり、HGFによってその状態が維持されていることが示唆される。エナメル芽細胞系列の細胞群が分裂活性の高い未分化段階に引き止められることは、歯乳頭を覆うに足るだけの十分な細胞数からなる上皮シートを形成することに有用であり、HGFはその増殖を支配する因子であると考えてよいであろう。

### (2) 副甲状腺ホルモン関連蛋白質 (PTHrP)

副甲状腺ホルモン関連蛋白質 (Parathyroid hormone related protein; PTHrP) は、最初、悪性腫瘍における高カルシウム血症の原因物質として血中から同定され<sup>19-20)</sup>、その後の研究で、パラクラインあるいはオートクライン因子として近接した細胞間で働くことや、さまざまな細胞の増殖や分化の調節に関わることが明らかとなってきた。ラット歯胚においては、頸係締を中心としたエナメル器、Malassezの上皮遺残、セメント芽細胞などでPTHrP遺伝子が<sup>21)</sup>、PTHrP受容体の

遺伝子発現は、歯胚では歯乳頭や歯小囊、歯胚周囲の歯槽骨表面 (=骨芽細胞などに富む) に発現が観察されている<sup>22)</sup>。すなわち、歯胚発生期においては、PTHrPは歯胚上皮から合成・分泌され、歯乳頭、歯小囊、および歯胚の周囲にある骨組織表面に働く因子であることが予想された。その後のアンチセンス法や破骨細胞の分化阻害剤による実験により、PTHrPは歯小囊周囲の破骨細胞の活性化を促し、歯槽骨など歯胚周囲の骨が歯胚に侵入してくるのを防御するのを支配している因子であることが判明した<sup>23-24)</sup>。歯胚そのものの上皮間葉相互作用に関わる因子ではなく、歯胚の中から外へとはたらく因子と考えてよい。

### (3) 骨形成因子 (BMP4)

骨形成因子 (Bone morphogenetic protein; BMP) は、異所性に骨形成を誘導する因子として発見されたが<sup>25)</sup>、その後、遺伝子がクローニングされ、体軸形成や様々な器官の発生に重要な機能を果たす因子であることが次第に明らかになった。現在までに20種以上の同属遺伝子が発見されており、TGF $\beta$ スーパーファミリーの中でも最大のサブファミリーを構成している。また、ショウジョウバエのdppのホモログであることから、ShhやWntとの関連も注目されている。歯では、BMP2, 4, 6, 7の発現が報告されているが、特にBMP4は、マウスE11の開始期歯胚の肥厚上皮に発現し、E12に歯胚間葉へと発現が移行することなどから、歯の形成における上皮・間葉相互作用での役割に興味を持たれている<sup>26-27)</sup>。一方、受容体IA, IBは内エナメル上皮に持続して発現することが知られている<sup>28-29)</sup>。BMP4の歯胚発生における働きについては、E12.0-E13.0では歯種の決定に関与している可能性があり<sup>30)</sup>、E13.0-E13.5では、歯冠の咬頭形成に関与していることが示されている<sup>31)</sup>。

## VI. おわりに

近年、歯に発現する遺伝子の研究は、ノックアウトマウスの研究や歯の遺伝性疾患の研究と結びつき、歯の発生そのものの研究をさらに進展させるというよい循環を見せている。こうした状況にあって、エナメル質形成の研究の向かう方向としては3つ考えられる。ひとつは、臨床研究との交流による歯の遺伝性疾患のいっそうの解明をめざすことである。現時点では原因遺伝子や疾患のメカニズムが判明している歯の疾患は少なく十分な成果が望める状況にある。ふたつめは、進化研究との交流によるエナメル質形成の進化過程の

解明やエナメル芽細胞の由来の解明であろう。化石動物も含めてさまざまな動物の歯からの記載生物学と、遺伝子、細胞、発生といった実験生物学が合流してダイナミックな進化学が動き始めている。3つめは、他の器官発生との比較研究である。とりわけ、上皮の付属器官である毛や羽根、汗腺、乳腺などとの共通点と相違点を明らかにすることは重要と思われる。本稿がこうした関連分野の方々の興味を少しでもひくことができたなら幸甚である。

#### 謝 辞

本稿執筆にあたり、ハイドロキシアパタイト結晶については朝日大学歯学部理工学講座の飯島まゆみ博士に、エナメル芽細胞の形態分類については新潟大学大学院医歯学総合研究科硬組織形態学分野の大島勇人教授に、細胞系譜や幹細胞については九州歯科大学口腔解剖学第2講座の原田英光助教授に、歯根形成期については岩手医科大歯学部口腔解剖学第2講座の藤原尚樹博士に助言や示唆をいただきました。心から感謝いたします。

#### 文 献

- 森脇豊：エナメル質の結晶化学；エナメル質，その形成，構造，組成と進化。須賀昭一編，2-13，クインテッセンス出版，東京，1987
- 須賀昭一：エナメル質形成過程のあらまし；エナメル質，その形成，構造，組成と進化。須賀昭一編，46-49，クインテッセンス出版，東京，1987
- 飯島まゆみ，森脇豊：エナメル質アパタイト結晶の形成機構—オクタカルシウムリン酸（OCP）の結晶成長に及ぼす有機基質の影響について。日本結晶成長学会誌，26，175-183，1999
- Uchida, T., Tanabe, T., Fukae, M., Shimizu, M., Yamada, M., Miake, K. & Kobayashi, S.: Immunochemical and immunohistochemical studies, using antisera against porcine 25 kDa amelogenin, 89 kDa enamelin and the 13-17 kDa nonamelogenins, on immature enamel of the pig and rat. *Histochemistry*, 96, 129-138, 1991
- 小澤英浩：エナメル芽細胞の微細構造学的特徴と機能；エナメル質，その形成，構造，組成と進化。須賀昭一編，50-75，クインテッセンス出版，東京，1987
- Harada, H., Kettunen, P., Jung, H.S., Mustonen, T., Wang, Y.A. & Thesleff, I.: Localization of putative stem cells in dental epithelium and their association with Notch and FGF signaling. *J Cell Biol.*, 147, 105-120, 1999
- Harada, H., Toyono, T., Toyoshima, K., Yamasaki, M., Itoh, N., Kato, S., Sekine, K. & Ohuchi, H.: FGF10 maintains stem cell compartment in developing mouse incisor. *Development*, in press
- Harada, H., Mitsuyasu, T., Toyono, T. & Toyoshima, K.: Epithelial stem cells in tooth. *Odontology*, in press
- Watt, F.M., Hogan, B.L.M. Out of eden: Stem cells and their niches. *Science*, 287, 1427-1430, 2000
- Tabata, M.J., Matsumura, T., Liu, J.-G., Wakisaka, S. & Kurisu, K.: Expression of cytokeratin 14 in ameloblasts-lineage cells of developing tooth of rat tooth both in vivo and in vitro. *Arch. Oral Biol.* 41, 1019-1027, 1996
- Nakamura, T., Nawa, K. & Ichihara, A.: A purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 122, 1450-1459, 1984
- Gohda, E., Tsubouchi, H., Nakayama, H., Hirono, S., Takahashi, K., Koura, M., Hashimoto, S., Daikuhara, Y., Human hepatocyte growth factor in plasma from patients with fulminant hepatic failure. *Exp Cell Res.*, 166, 139-150, 1986
- Sonnenberg, E., Weidner, K.M. & Birchmeier, C.: Scatter factor/hepatocyte growth factor and its receptor, the c-met tyrosine kinase, can mediate a signal exchange between mesenchyme and epithelia during mouse development. *J. Cell Biol.* 123, 223-235, 1993
- 田畑 純，栗栖浩二郎：アンチセンス法と器官培養法による歯胚発生の研究へのアプローチ。Arch. Comp. Biol. Tooth Enamel, 6, 19 - 33, 1999
- Tabata, M. J., Kim, K., Liu, J.-G., Yamashita, K., Matsumura, T., Kato, J., Iwamoto, M., Wakisaka, S., Matsumoto, K., Nakamura, T., Kumegawa, M. & Kurisu, K.: Hepatocyte growth factor is involved in the morphogenesis of tooth germ in murine molars. *Development* 122, 1243-1251, 1996
- Kukita, A., Harada, H., Kukita, T., Inai, T., Matsushashi, S. & Kurisu, K.: Primary and secondary culture of rat ameloblasts in serum-free medium. *Calcif. Tissue Intn.*, 51, 393-398, 1992

- 17) 田畑 純, 松村達志, 栗栖浩二郎: エナメル芽細胞の初代培養法. *Arch. Comp. Biol. Tooth Enamel*, 7, 23-32, 2000
- 18) Matsumura, T., Tabata, M.J., Wakisaka, S., Sakuda, M. & Kurisu, K.: Ameloblast-lineage cells of rat tooth germs proliferate and scatter in response to hepatocyte growth factor in culture. *Intn. J. Develop. Biol.* 42, 1137-1142, 1998
- 19) Moseley, J. M., Kubota, M., Diefenbach-Jagger, H., Wettenhall, R. E., Kemp, B.E., Suva, L.J., Rodda, C. P., Ebeling, P. R., Hudson, P. J., Zajac, J. D., et al.: Parathyroid hormone-related protein purified from a human lung cancer cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 84, 5048-5052, 1987
- 20) Suva, L. J., Winslow, G. A., Wettenhall, R. E., Hammonds, R. G., Moseley, J.M., Diefenbach-Jagger, H., Rodda, C. P., Kemp, B. E., Rodriguez, H., Chen, E. Y., Hudson, P. J., Martin, T. J. & Wood, W. I.: A parathyroid hormone-related protein in malignant hypercalcemia: cloning and expression. *Science* 237, 893-896, 1987
- 21) Beck, F., Tucci, J., Russell, A., Senior, P. V. & Ferguson, M. W. J.: The expression of the gene coding for parathyroid hormone-related protein (PTHrP) during tooth development in the rat. *Cell Tissue Res.* 280, 283-290, 1995
- 22) Lee, K., Deeds, J. D. & Segre, G. V.: Expression of parathyroid hormone-related peptide and its receptor messenger ribonucleic acids during fetal development of rats. *Endocrinology* 136, 453-463, 1995
- 23) Liu, J.-G., Tabata, M.J., Yamashita, K., Matsumura, T., Iwamoto, M. & Kurisu, K.: Developmental role of PTHrP in murine molars. *Eur. J. Oral Sci.* 106 (s1), 143-146, 1998
- 24) Liu, J. -G., Tabata, M. J., Fujii, T., Ohmori, T., Abe, M., Ohsaki, Y., Wakisaka, S., Iwamoto, M. & Kurisu, K.: Parathyroid hormone-related peptide is involved in protection against invasion of tooth germs by bone via promoting the differentiation of osteoclasts during tooth development. *Mech. Develop.* 95, 189 - 200, 2000
- 25) Urist, M. R.: Bone: formation by autoinduction. *Science* 150, 893-899, 1965
- 26) Vainio, S., Karavanova, I., Jowett, A. & Thesleff, I.: Identification of BMP-4 as a signal mediating secondary induction between epithelial and mesenchymal tissues during early tooth development. *Cell* 75, 45-58, 1993
- 27) Vaahtokari, A., Aberg, T., Jernvall, J., Keranen, S. & Thesleff, I.: The enamel knot as a signaling center in the developing mouse tooth. *Mech. Develop.* 54, 39-43, 1996
- 28) Iseki, S., Osumi-Yamashita, N., Miyazono, K., Franzen, P., Ichijo, H., Ohtani, H., Hayashi, Y. & Eto, K.: Localization of transforming growth factor- $\beta$  type I and type II receptors in mouse development. *Exp. Cell Res.* 219, 339-347, 1995
- 29) Ikeda, T., Takahashi, H., Suzuki, A., Ueno, N., Yokose, S., Yamaguchi, A. & Yoshiki, S.: Cloning of rat type I receptor cDNA for bone morphogenetic protein-2 and bone morphogenetic protein-4, and the localization compared with that of the ligands. *Develeop. Dynamics* 206, 318-329, 1996
- 30) Tucker, A.S., Matthews, K.L. & Sharpe, P.T.: Transformation of tooth type induced by inhibition of BMP signaling. *Science* 282, 1136-1138, 1998
- 31) Tabata, M. J., Fujii, T., Liu, J. -G., Ohmori, T., Abe, M., Wakisaka, S., Iwamoto, M. & Kurisu, K: Bone morphogenetic protein 4 is involved in cusp formation in molar tooth germ of mice. *Eur. J. Oral Sci.*, in press

## 平成13年度鹿児島大学歯学部公開講座 「健やかな人生のための歯科医療」

会 場：宮崎県歯科医師会館

日 時：平成13年11月25日 10：00～18：00

### プログラム

1. 高齢者のQOLと有床義歯補綴  
長岡英一教授（歯科補綴学講座2）
2. 歯科心身症への対応—歯科医療におけるカウンセリング—  
梶原和美講師（歯科基礎科学講座）
3. 歯科診療における偶発症の防止と対策  
椛山加綱教授（歯科麻酔科）
4. 小児の歯科保健  
小椋 正教授（小児歯科学講座）
5. 歯周病と全身疾患  
和泉雄一教授（歯科保存学講座2）
6. 口唇口蓋裂治療における歯科医療の役割  
三村 保教授（口腔外科学講座2）

### 実施報告

世話人 長岡 英一

本講座は、成長・発育段階にある小児から何らかの病気を有する高齢者まで、それぞれの心身の状況を踏まえ、健やかな人生を支援する歯科医療についての最新情報を提示するために実施された。スライド、OHP、液晶プロジェクターを用いた分かりやすく熱心な講演に対し、多数の的を得た質問があり、総合討論においても活発な質疑応答がなされ、口腔保健と心身との関係に対する関心の深さが窺えた。本講座は、宮崎県歯科医師会のご支援のもとに共催され、宮崎北辰会の全面的協力を得て、歯学部関係者の尽力により所期の目的が達成されました。この紙面をお借りして、関係各位に感謝の意を表します。



## 平成13年度鹿児島大学歯学部公開講座

## 「口と心身」

会 場：川内市民会館

日 時：平成14年2月3日 13:00～18:00

## プログラム

- |                   |         |             |
|-------------------|---------|-------------|
| 1. 口から見える身体の病気    | 杉原一正教授  | (口腔外科学講座第一) |
| 2. 菌の病気が起こす全身感染   | 伊藤博夫助教授 | (予防歯科学講座)   |
| 3. 噛み合せと身体の健康     | 田中卓男教授  | (歯科補綴学講座第一) |
| 4. 歯科治療にともなう心の揺らぎ | 梶原和美講師  | (歯科基礎科学講座)  |

## 実施報告

世話人 井上 昌一

本年度第2回目の歯学部公開講座は、鹿児島県歯科医師会との共催のもとに、北薩の地、川内市において実施された。副題を「口と身体と心と」としたように、本講座は、一つは口腔と全身の健康の相互の深い関わり、他に一つは歯科治療の心身に与える影響に整理して、地域歯科医療の最前線にある臨床医とともに「口と心身」との関連性について考えることを企図していた。冬の最中とはいえ穏やかな快晴の日曜日に受講者は決して多くはなかったが、全員が終始集中して聴講され、講師との間にかなり突っ込んだ議論が活発に交わされ、双方に実のある時間を過ごしたと自賛している。閉会後も日々自己研鑽に励まれている多くの熱心な方々と忌憚ない意見の交換と親交の場を持たたことも予期せぬ幸いであった。

今回の公開講座に際しては、四元貢会長自らのご出席もみた鹿児島県歯科医師会ならびに川内市をはじめ北薩地区の市郡歯科医師会の絶大なご支援があった。厚くお礼申し上げます。学内の関係各位のご努力にも敬意を表します。



鹿児島大学歯学部発表論文（2000年（H12）SCIリスト雑誌で公表された業績）

1. Yasui, K., Zhang, SC., Uemura, M. & Saiga, H.: Left-right asymmetric expression of *BbPtx*, a *Ptx* - related gene, in a lancelet species and the developmental left - sidedness in deuterostomes. **Development**, 127, 187-195, 2000
2. Sato, H., Yasui, K. & Byamana, K.: Follow-up survey of environmental impacts of the Rwandan refugees on eastern D. R. Congo. **Ambio**, 29, 122-123, 2000
3. Nakashima, M., Uemura, M., Yasui, K., Ozaki, H. S., Tabata, S. & Taen, A.: An anterograde and retrograde tract-tracing study on the projections from the thalamic gustatory area in the rat: distribution of neurons projecting to the insular cortex and amygdaloid complex. **Neurosci. Res.**, 36, 297-309, 2000
4. Matsuyama, T., Izumi, Y., Shibata, K., Yotsumoto, Y., Obama, H., Uemura, M., Maruyama, I. & Sueda, T.: Expression and activity of thrombomodulin in human gingival epithelium: *in vivo* and *in vitro* studies. **J. Periodontal Res.**, 35, 146-157, 2000
5. Doi, J., Niigaki, H., Sone, K., Takabatake, T., Takeshima, K., Yasui, K., Tosuji, H., Tsukahara, J. & Sakai, M.: Distribution of dorsal-forming activity in precleavage embryos of the Japanese newt, *Cynops pyrrhogaster*: effects of deletion of vegetal cytoplasm, UV irradiation, and lithium treatment. **Dev. Biol.**, 223, 154-168, 2000
6. Sato, I. & Shimada, K.: Quantitative analysis of tenascin in chordae tendineae of human left ventricular papillary muscle with aging. **Annals of Anatomy**, 183, 443-448, 2001
7. Itoh, M., Moriyama, H., Tokunaga, Y., Miyamoto, K., Nagata, W., Satriotomo, I., Shimada, K. & Takeuchi, Y.: Embryological consideration of drainage of the left testicular vein into ipsilateral renal vein: analysis of cases of a double inferior vena cava. **International Journal of Andrology**, 24, 142-152, 2001
8. Yamaguchi, H., Wakiguchi, S., Murakami, G., Hata, F., Hirata, K., Shimada, K. & Kitamura, S.: Blood supply to the duodenal papilla and the communicating artery between the anterior and posterior pancreaticoduodenal arterial arcades. **Journal of Hepatobiliary Pancreat Surg.**, 8, 238-244, 2001
9. Harada, S., Yamaguchi, K., Kanemaru, N. & Kasahara, Y.: Maturation of taste buds on the soft palate of the postnatal rat. **Physiol. Behav.** 68, 333-339, 2000
10. Harada, S. & Kasahara, Y.: Inhibitory effect of gurmarin on palatal taste responses to amino acids in the rat. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.** 278, R1513-R1517, 2000
11. Sako, N., Harada, S. & Yamamoto, T.: Gustatory information of umami substances in three major taste nerves. **Physiol. Behav.** 71, 193-198, 2000
12. Ohnishi, T., Suwa, M., Oyama, T., Arakaki, N., Torii, M. & Daikuhara, Y.: Prostaglandin E<sub>2</sub> predominantly induces production of hepatocyte growth factor/scatter factor in human dental pulp in acute inflammation. **J. Dent. Res.**, 79, 748-755, 2000
13. Sugiyama, A., Ogawa, T., Daikuhara, Y. & Takada, H.: Enhancement of hepatocyte growth factor (scatter factor) production by human gingival fibroblasts in culture stimulated with *Porphyromonas gingivalis* fimbriae. **J. Med. Microbiol.**, 49(4), 319-325, 2000
14. Dziegielewska, K. M., Daikuhara, Y., Ohnishi, T., Phil, M., Waite, E., Ek, J., Habgood, M. D., Lane, M. A., Potter, A. & Saunders, N. R.: Fetuin in the developing neocortex of the rat: Distribution and origin. **J. Comp. Neurol.**, 423, 373-388, 2000
15. Matsumori, B., Miyazaki, S., Takano, H., Ono, K., Okuda, M., Miyamoto, T., Nonogi, H., Daikoku, S., Mitsudo, K., Matsunaga, Y., Ohnishi, T., Daikuhara, Y. & Sasayama, S.: Circulating hepatocyte growth factor as a marker of thrombus formation in unstable angina pectoris. **Jpn. Circ. J.**, 64, 805-807,

2000

16. Ohnishi, T., Kakimoto, K., Hashida, S., Fujii, M., Hirono, S., Nishiyama, K., Amita, Y., Ishikawa, E., Tsubouchi, H. & Daikuhara, Y.: Development of highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assays for hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF): determination of HGF/SF in serum and urine from normal human subjects. **J. Immunol. Meth.**, 244, 163-173, 2000
17. Landini, G., Hirayama, Y., Li, T-J. & Kitano, M.: Increased fractal complexity of the epithelial-connective tissue interface in the tongue of 4NQO-treated rats. **Pathol. Res. Pract.**, 196, 251-258, 2000
18. Tanuma, J., Kitano, M., Shisa, H. & Hiai, H.: Polygenetic susceptibility and resistance to 4-nitroquinoline 1-oxide-induced tongue carcinomas in the rat. **J. Exp. Anim. Sci.**, 41, 68-77, 2000
19. Kitano, M.: Host genes controlling the susceptibility and resistance to squamous cell carcinoma of the tongue in a rat model. **Pathol. Intern.**, 50, 353-362, 2000
20. Semba, I., Ishigami, T., Sugihara, K. & Kitano, M.: Osteoclastic higher demineralization and highly mineralized cement lines with osteocalcin deposition in a mandibular cortical bone of autosomal dominant osteopetrosis type II: ultrastructural and undecalcified histological investigations. **Bone**, 27, 389-395, 2000
21. Semba, I., Nonaka, K., Takahashi, K., Takahashi, I., Dashner, R., Shum, L., Nuckolls, G.H. & Slavkin, H. C.: Positionally dependent chondrogenesis induced by BMP4 is co-regulated by Sox9 and Msx2. **Dev. Dyn.**, 217, 401-414, 2000
22. Gotoh, K., Izumi, H., Kanamoto, T., Tamada, Y. & Nakashima, H.: Sulfated fibroin, a novel sulfated peptide derived from silk, inhibits human immunodeficiency virus replication in vitro. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, 64, 1664-1670, 2000
23. Fukai, T., Sakagami, H., Toguchi, M., Takayama, F., Atsumi, T., Ueha, T., Nakashima, H. & Nomura, T.: Cytotoxic activity of low molecular weight polyphenols against human oral tumor cell lines. **Anticancer Res.**, 20, 2525-2536, 2000
24. Kanamoto, T., Sato, S. & Inoue, M.: Genetic heterogeneities and phenotypic characteristics of strains of the genus *Abiotrophia para-adiacens* sp. **J Clin. Microbiol.**, nov, 38, 492-498, 2000
25. Motohashi, N., Kawase, M., Saito, S., Kurihara, T., Satoh, K., Nakashima, H., Premanathan, M., Arakaki, R., Sakagami, H. & Molnar, J.: Synthesis and biological activity of N-acylphenothiazines. **Antimicrob. Agents**, 14, 203-207, 2000
26. Satoh, K., Sakagami, H., Ida, Y., Komatsu, N., Nakashima, H., Kanbara, K., Gupta, M., Sarma, D. N. & Mitra, K.: Antimicrobial and radical modulation activity of AV-07, a poly-herbal formula. **In vivo**, 14, 351-356, 2000
27. Gotoh, K., Izumi, H., Kanamoto, T., Tamada, Y. & Nakashima, H.: Sulfated fibroin, a novel sulfated peptide derived from silk, inhibits human immunodeficiency virus replication in vitro. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, 64, 1664-1670, 2000
28. Tamamura, H., Omagari, A., Oishi, S., Kanamoto, T., Yamamoto, N., Peiper, S. C., Nakashima, H., Otake, A. & Fujii, N.: Pharmacophore identification of a specific CXCR4 inhibitor, T140, leads to development of effective anti-HIV agents with very high selectivity indexes. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 10, 2633-2637, 2000
29. Irifune, M., Sato, T., Kamata, Y., Nishikawa, T., Dohi, T. & Kawahara, M.: Evidence for GABA<sub>A</sub> receptor agonistic properties of ketamine: convulsive and anesthetic behavioral models in mice. **Anesth. Analg.**, 91, 230-236, 2000
30. Kanie, T., Fujii, K., Arikawa, H. & Inoue, K.: Flexural properties and impact strength of denture base polymer reinforced with woven glass fibers. **Dent. Mater.**, 16, 150-158, 2000
31. Hiromori, K., Fujii, K. & Inoue, K.: Viscoelastic properties of denture base resins obtained by

- underwater test. **J. Oral Rehabil.**, 27, 522-531, 2000
32. Kanamoto, T., Sato, S. & Inoue, M.: Genetic heterogeneities and phenotypic characteristics of strains of the genus *Abiotrophia* and proposal of *Abiotrophia para-adiacens* sp. nov. **J. Clin. Microbiol.**, 38, 492-498, 2000
  33. Okada, T., Kitada, K., Takagaki, M., Itoh, H.-O. & Inoue, M.: Endocardiac infectivity and binding to extracellular matrix proteins of oral *Abiotrophia* species. **FEMS-Immun. Med. Microbiol.**, 27, 257-261, 2000
  34. Kitada, K., Okada, Y., Kanamoto, T. & Inoue, M.: Serological properties of *Abiotrophia* and *Granulicatella* species (Nutritionally Variant Streptococci). **Microbiol. Immunol.**, 44, 981-985, 2000
  35. Ehara, A., Torii, M., Imazato, S. & Ebisu S.: Antibacterial Activities and Release Kinetics of a Newly Developed Recoverable Controlled Agent-release System. **J. Dent. Res.**, 79, 824-828, 2000
  36. Matsushita, K., Motani, R., Sakuta, T., Yamaguchi, N., Koga, T., Matsuo, K., Nagaoka, S., Abeyama, K., Maruyama, I. & Torii, M.: The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Human Dental Pulp Cells: Induction of Chemotaxis, Proliferation, and Differentiation and Activation of the AP-1-dependent Signaling Pathway, **J. Dent. Res.**, 79, 1596-1603, 2000
  37. Oyama, T., Sakuta, T., Matsushita, K., Maruyama, I., Nagaoka, S. & Torii M.: Effects of Roxithromycin on Tumor Necrosis Factor-Alpha-Induced Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Human Periodontal Ligament Cells in Culture. **J. Periodontol.**, 71, 1546-1553, 2000
  38. Matsuyama, T., Izumi, Y., Shibata, K., Yotsumoto, Y., Obama, H., Uemura, M., Maruyama, I. & Sueda, T.: Expression and activity of thrombomodulin in human gingival epithelium: in vivo and in vitro studies. **J. Periodont. Res.**, 35, 146-157, 2000
  39. Abe, E., Yamamoto, M., Taguchi, Y., Lecka-Czernik, B., O'Brien, C. A., Economides, A. N., Stahl, N., Jilka, R. L. & Manolagas, S. C.: Essential requirement of BMPs-2/4 for both osteoblast and osteoclast formation in murine bone marrow cultures from adult mice: Antagonism by noggin. **J. Bone Miner. Res.**, 15, 663-673, 2000
  40. Nishi, Y., Tsuru, K., Kishita, C., Hamano, T., Kawahata, N. & Nagaoka, E.: Impression pressures against teeth in a partially edentulous model with a mobile tooth: influence of impression tray design. **J. Oral Rehabil.**, 27, 380-386, 2000
  41. Kawamoto, S. & Nagaoka, E.: The effect of oestrogen deficiency on the alveolar bone resorption caused by traumatic occlusion. **J. Oral Rehabil.**, 27, 587-594, 2000
  42. Nitta, T., Sugihara, K. & Murata, F.: Immunohistochemical study of MUC1 mucin in oral premalignant lesion and oral squamous cell carcinoma: Association with progression, mode of invasion and lymph node metastasis. **Cancer** 88: 247-254, 2000
  43. Liu, Z. J., Yamagata, K., Kuroe, K., Suenaga, S., Noikura, T. & Ito, G.: Morphological and positional assessments of TMJ components and lateral pterygoid muscle in relation to symptoms and occlusion of patients with temporomandibular disorders. **J. Oral Rehabil.**, 27, 860-874, 2000
  44. Morinushi, T., Lopatin, D. E., Poperin, N. V. & Ueda, Y.: The relationship between gingivitis and colonization by *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in children. **J. Periodontol.**, 71, 403-409, 2000
  45. Morinushi, T., Masumoto, Y., Kawasaki, H. & Takigawa, M.: Effect on electroencephalogram of chewing flavored gum. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**, 54, 645-651, 2000
  46. Yoshihara, T., Matsumoto, Y., Suzuki, J., Sato, N. & Oguchi, H.: Effect of serial extraction alone on crowding: Spontaneous changes in dentition after serial extraction. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.**, 118, 611-616, 2000
  47. Iwashita, Y.: Basic study of the measurement of bone mineral content of cortical and cancellous bone

- of the mandible by computed tomography . **Dentomaxillofac. Radiol.**, 29, 209-215, 2000
48. Suenaga, S., Ogura, T., Matsuda, T. & Noikura, T.: Severity of Synovium and Bone Marrow Abnormalities of the Temporomandibular Joint in Early Rheumatoid Arthritis: Role of Gadolinium-Enhanced Fat-Suppressed T1-Weighted Spin Echo MRI. **J. Comput. Assist. Tomogr.**, 24, 461-465, 2000
49. Sato, T., Morita, Y., Kawabata, Y., Noikura, T., Yamaguchi, K., Sugihara K. & Matsune S.: Clinical evaluation of lymphoscintigraphy with a new technetium compound for metastatic cervical lymphadenopathy. **Dentomaxillofac Radiol**, 29, 230-237, 2000
50. Sato, T., Yamaguchi, K., Morita, Y., Noikura, T., Sugihara K. & Matsune S.: Lymphoscintigraphy for interpretation of changes of cervical lymph node function in patients with oral malignant tumors: Comparison of Tc-99m-Re and Tc-99m-HSA-D. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.** 90, 525-537, 2000
51. Yokoyama, K. & Sugiyama, K.: Alleviation of refractory neuralgia after mandibular osteomyelitis by inferior nerve block with combination of Neovitacain™ and dexamethasone—Report of a case—. **The Pain Clinic.**, 12, 333-336, 2000

## 編 集 後 記

歯学部と附属病院は、医歯学総合研究科、新構想病院、事務の一元化に向けての組織再編準備の真っ只中にあり、教育面でもFD、CBT、OSCE、研修医教育などへの対応を求められ、何かと大変な時期です。このような時勢の中で、退官と新任とを合わせて5人の先生方のりっぱな総説論文を掲載することができました。SCIリスト誌は51編を数え、一昨年設置されたばかりの特殊歯科総合治療部の専任教官の業績が加わりました。公開講座は宮崎県と川内市において異なるテーマで開催され、いずれも所期の目的を達成して、地域歯科医療に貢献しました。

本誌発刊にご協力いただいた関係各位のご尽力に感謝申し上げます。

(編集委員 長岡英一)

平成 14 年 3 月 15 日 印刷

平成 14 年 3 月 25 日 発行

発行所

鹿児島大学歯学部 代表 大工原 恭

鹿児島市桜ヶ丘八丁目35-1

印刷所

斯文堂株式会社

鹿児島市新屋敷町14-16

電話番号 099-226-3747

