My Thesis（私の学位論文）

ヘルスバイオサイエンス研究部歯周歯内治療学分野　永田 俊彦

永田俊彦

培養ウシ歯髄のホルモン応答性に関する研究
−DNA 合成, GAG 合成, ODC 活性に及ぼすホルモンの影響−

日本歯科保存学雑誌, 第 29 巻 3 号：960-972, 1986.　※冊子体が蔵本分館に所蔵あり

私は 1978 年に九州大学歯学部を卒業し、縁があって当時新設されたばかりの徳島大学歯学部歯科保存学第二講座に所属することになった。当初は、徳島大学病院で臨床の腕を磨いた後、九州か北海道あたりで臨床医として生きていこうと考えていたが、当時のボスであった徳島大学・若野洋一教授（2013 年逝去）に「大学にいる限り研究するのはデューティだ」と言われ、歯学部生化学講座（竹田義朗教授、2011 年逝去）に出入りするようになったのが私の研究人生の始まりである。歯科保存学というのは歯を保存するために、う蝕、歯髄炎、根尖性歯周組織炎、および歯周病の病態を解明するとともに、これらの疾患の診断法や治療法の開発を行う専門分野である。歯髄は硬組織に囲まれた歯の内部に存在する疎性結合組織で、象牙質を作りながら生涯に亘って歯を維持する不思議な組織である。う蝕、冷水、温熱、甘味など外部からの刺激に対応して歯の内側に修復象牙質を作る役割を担っているのが歯髄細胞で、歯髄細胞は形態的には線維芽細胞様であるが、状況に応じて硬組織を形成する能力があることから、機能的な面でどのような性質をもつのかに関して多くの研究者が興味を示していた。当時、私の研究の直接の指導者は歯科保存学第二講座の石田浩助教授（現在 USA 在住）と生化学講座の井上秀夫助教授（後に教授）であり、今思えば井上先生にはいつも怒られてばかりであった。井上先生が勧める実験ノートは、服飾デザイナーが使うデザインノートである。これは、ノートサイズが大きく紙面はすべて方眼紙になっているために、直に図表が描ける点で優れていた。そこに実験日、実験内容、材料と方法、結果といった具合に鉛筆で細かく内容を描記して、実験のたびにこの作業を繰り返した。振り返ると、このような地道な作業が研究を行う上での極めて重要な習慣となり、実験データをまとめディスカッションする中で実験結果の分析力だけでなく研究倫理も自然に培われたと実感する。当時はワープロもなく、文字は手書き、英文はタイプライター、抄読会は板書で説明するなど、すべてが手作業であり、実験の際にはディスポ製品は少なく、試験管や培養シャーレもよく洗った。

実験はウシ歯髄を入手した時点で慌ただしく始まる。実験材料を得るために、石井町の日本ハム工場に常駐する獣医さんのご厚意により子ウシの頭部を入手し、持ち帰った下顎骨から前歯 8 本を抜歯し、さらに歯髄組織を取り出し、それを細切して、培地に浮かべたシリコンペーパーの上で器官培養する実験系である。歯髄細胞に硬組織形成能を示す特徴があるかどうかを調べるために、副甲状腺ホルモン（PTH）および活性型ビタミン D3（VD3）が歯髄細胞の増殖と分化に及ぼす影響を DNA 合成能、プロテオグリカン（GAG）合成能、およびオルニチン脱炭酸酵素（ODC）活性を指標として調べた。器官培養の場合、無血清培地なので組織の鮮度が大切であり一気に実験を行う必要がある。午前中に始めた実験は大抵の場合、翌日の未明までかかってしまうことが常であった。午前 5 時頃に帰宅して 2〜3 時間の睡眠をとった後、午前 9 時からは何事もなかったかのように外来診療を行っていた時代が懐かしく思い出される。我ながら、あの頃は馬力も気力も人並み以上あったと思う。実験を繰り返した末、PTH や VD3 単独添加では歯髄細胞は応答しないが、インスリンの存在下では細胞そのものの活性が上昇し、PTH や VD3 はインスリン単独添加の場合よりもさらに DNA 合成能や GAG 合成能を上昇させ、そこに ODC 活性の上昇が介在しており、さらに歯根未完成な歯の歯髄（未分化な組織）ほどその反応性が高いという結果が得られた。当時の自分にとって、この成果は日本語の論

文であっても十分に満足できるものであった。論文作成の際には、レタリングシールを使って図表を作成し、原稿用紙 30 枚ほどの手書き論文を何回も書き直して、人差し指が痛くなった感覚が忘れられない。出来上がった論文は九州大学で学位審査を受け、1986 年に論文博士（歯学博士）を取得することができた。しかし、事前に行われた英語とドイツ語の難解な語学試験や公開審査時のシビアな質問など、場面場面で学位取得の厳しさを思い知った。一方で、大きな場所で事に向かう際の度胸と根性がついたのはこの頃であったと思う。

学位取得後は、歯髄組織の硬組織形成能や骨芽細胞の蛋白合成などの研究に邁進し、1988 年〜1990 年にカナダ・トロント大学歯学部 MRC Group in Periodontal Physiology のヤロー・ソデック教授（2008 年逝去）の下に留学し、石灰化基質に取り込まれるオステオポンチン、骨シアロ蛋白、プロテオグリカンなどの発現についての生化学的研究を行い、世界で研究することの素晴らしさを学んだ（Nagata *et al*. Biochem Biophys Res Commun 165: 234-240, 1989, Nagata *et al*. Biochem J 274: 513-520, 1991, Nagata *et al*. Matrix 11: 86-100, 1991）。帰国後は、歯髄細胞でもオステオポンチンが産生されており、それが VD３によって産生制御されることを発見し、私の学位論文から始まった歯髄細胞に関する研究がここで世界の土俵に上がることができたと実感した（Yokota *et al*. Biochem Biophys Res Commun 189: 892-898, 1992, Nagata *et al*. Arch Oral Biol 39: 775-782, 1994）。その後、オステオポンチンと石灰化の関連については、近畿大学医学部泌尿器科の郡健二郎講師（後の名古屋市立大学教授、病院長、医学部長）との共同研究で、尿路結石中にオステオポンチンが存在し、これが結石形成の重要蛋白であるというプロジェクトにも参画することができた（Kohri *et al*. J Biol Chem 268: 15180-15184, 1993）。

2000 年以降の研究は、歯周病の進行における骨代謝の変化、薬物性歯肉増殖症の病因解明、歯髄結石の形成メカニズム、そして糖尿病と歯周病との関連についての研究など枚挙にいとまがないが、私の学位論文から発した関連研究が、現在も教室員によって継続されていることは喜ばしい限りである。とくに、最近力を注いでいる糖尿病と歯周病の関連研究では、インスリンの作用に注目する機会が多い。自らの学位研究においてインスリンの効果に支えられて実験データが完成し論文が仕上がったことを考えると、現在行っている研究が昔から何らかの赤い糸で結ばれていたのかもしれないという不思議な思いがする。実は、学位の研究の際に、100 μg のインスリンの微量粉末をバッファーに溶かしてストックソルーションを作り、さらに薄めて培地に入れると、培養組織がたちどころに元気になり、増殖や分化のマーカーが著しく上昇したことに驚きと感動を受けたことを鮮明に記憶している。それ以来、インスリンは生命を活性化する魔法の粉末であると確信した。また、私が留学したトロント大学においてフレデリック・バンティング博士がインスリンを発見し、1923 年にノーベル賞を受賞したという事実を帰国後に知った。

歯周病は全身状態と密接に関連して、血糖コントロールを悪くしたり、動脈硬化の促進因子になったり、関節リウマチを悪化させたり、低体重児出産を促したりすることなどが明らかにされつつある。このようなことから、最近は「歯周医学（ペリオドンタルメディシン）」という新しい学問体系ができ、歯科の研究者だけでなく医科の研究者からも歯周病への興味が示されている。当教室での研究の最新トピックスは、歯肉溝滲出液を用いた糖尿病関連性歯周炎の診断で、グリコアルブミンとカルプロテクチンの測定が有用であること（Kajiura *et al*. J Periodontol 85: 1667-1675, 2014）、最終糖化産物 AGE が歯髄細胞の分化を促進し不都合な石灰化を誘導していること（Nakajima *et al*. J Endodontics 39: 873-878, 2013）などである。徳島大学歯学部の歴史の中で、ささやかではあるが以上のような研究を現在も継続することができ、私自身「大学にいてよかった」と最近やっと素直に言えるようになった。