

筋、上腕二頭筋に比して、筋活動電位を機械的仕事に変換する効率が高いことを確認し、大腿直筋と上腕二頭筋は筋活動量を増加させることによって筋の運動単位を数的に増加させ、疲労による機能低下を補完しているために短時間に運動単位全体が疲労し、持久的運動が困難となること、一方、咬筋と側頭筋は、筋活動の周波数成分

を低周波帯域に変化させることにより、筋活動を維持し、持続的な運動が可能となるものと推測している。

本研究によって得られたこれらの結果は歯科補綴学ならびに関連諸学科の進歩発展に寄与するところが大であり、審査の結果、本論文は学位授与に値すると判定した。

氏名・(本籍)	北所 恵 (北海道)
学位の種類	博士 (歯学)
学位記番号	甲 第45号
学位授与の日付	平成9年3月21日
学位授与の要旨	学位規則第5条1項該当 (課程博士)
学位論文題目	ヒト乳歯歯根吸収過程の組織細胞学・組織細胞化学的研究
論文審査委員	主査 教授 矢嶋俊彦 副査 教授 武田正子 副査 教授 五十嵐清治

論文内容の要旨

1. 緒 言

乳歯の生理的脱落は、主に多核巨細胞である破歯細胞による歯根吸収と歯冠象牙質吸収によってもたらされる。この吸収過程は、活発な吸収が行われている吸収期、基質の新生・添加がなされる修復期、その移行・転換期である休止期が繰り返され、間欠的に進行することが既に報告されている。

吸収面に存在する吸収組織には、破歯細胞、その前駆細胞と多数の間葉系細胞が存在する。破歯細胞は形態的、機能的に破骨細胞に類似し、石灰化セメント質・象牙質の吸収も破骨細胞による骨吸収と同様な機序によって起きると考えられている。また、破骨細胞の機能調節・制御は直接作用する因子と共に、骨芽細胞などを介した間接作用によることが明らかにされている。しかし、乳歯歯根吸収とそれに伴う象牙質吸収過程において、非石灰化象牙前質の吸収機序、修復期におけるセメント質様組織の添加や破歯細胞の機能調節・制御機構は明らかにされていない。

そこで、ヒト乳歯の歯髓側象牙質の生理的吸収過程を

光学顕微鏡 (光顕)、共焦点レーザースキャン顕微鏡 (CLSM)、走査型電子顕微鏡 (走査電顕) と透過型電子顕微鏡 (透過電顕) を用いて組織細胞学・組織細胞化学的に検索した。

2. 材料と方法

材料には、吸収が歯根長の1/2以上に達し、歯髓側象牙質にまで進行した歯根吸収中期の6～12歳の小児乳切歯、乳犬歯を用いた。浸潤麻酔下で抜歯し、直ちに4%パラホルムアルテヒド、または、2%パラホルムアルテヒド-2%クルタルアルデヒド混合固定液で浸漬固定後、2群に分けた。

第1群は、試料を唇舌的に半切し、一方は非脱灰研磨標本を作成し、顕微X線像 (CMR) を撮影後、光顕で観察した。他方は10%EDTAで脱灰後、走査電顕と透過電顕で観察した。第2群は、脱灰後、マイクロスライサーで厚切り切片とし、破歯細胞のマーカー酵素である酒石酸耐性酸性ホスファターゼ (TRAPase) 活性と基質形成系細胞のマーカー酵素であるアルカリ性ホスファターゼ (ALPase) 活性を組織細胞化学的に検出し、光顕と

CLSMで観察した。また、一部試料は透過電顕でも観察した。

3. 結果と考察

歯根吸収中期では、歯髄腔の露出面から歯冠側の一次・二次象牙質、象牙前質を含む象牙質吸収面には、種々の深さ形状の吸収窩が波状に観察された。吸収窩にはTRAPase陽性の多核巨細胞である破歯細胞、破歯細胞とは明らかに異なる単核小型細胞あるいは、両細胞が隣接共存しているのが観察された。歯冠側象牙前質には、萎縮した象牙芽細胞が不規則に配列しており、その間に割り込むようにTRAPase陽性の単核または多核の波状縁を持たない前破歯細胞の存在が観察された。吸収最前線にある象牙前質上にもTRAPase陽性破歯細胞が認められたが吸収窩の形成はみられなかった。これらの細胞より根尖側象牙前質の破歯細胞は、周囲に単核小型細胞が存在し、吸収窩を形成していた。破歯細胞周囲には多数の血球が認められた。

吸収象牙質に密着した破歯細胞は、発達した波状縁と明帯を持ち、細胞質内は多数のミトコンドリア、ライソゾームと大小の液胞で占められ、非吸収面である背側には長い微絨毛を有していた。厚切り切片のCLSM観察で、破歯細胞は波状縁と異なるTRAPase陽性の細胞突起を象牙細管の奥深くまで侵入させていることが認められた。象牙質吸収面では、象牙質結晶の溶解とコラーゲン(細)線維の分解が認められた。象牙前質上の破歯細胞も同様な発達した波状縁と細胞小器官を持っていた。また、同一研磨標本のCMR像と光顕像の比較観察からも、波状縁での未石灰化象牙前質の吸収が確認された。破歯細胞は、破骨細胞と異なり、非石灰化基質(象牙前質)

の吸収に関与していることが明らかとなった。

象牙質面から遊離した多核巨細胞では波状縁は消失し、球形化し、TRAPase活性も減弱していた。破歯細胞の存在しない吸収窩は、単核小型細胞(間葉系細胞)で占められていた。これらの細胞の多くはALPase陽性で、発達した粗面小胞体とゴルジ装置を持ち、吸収面とこれらの細胞間に新生されたコラーゲン(細)線維の集積からなるセメント質様組織の添加が認められた。これらのALPase陽性細胞が形成系細胞であることが明らかとなつた。しかし、形成系細胞と形成された組織の同定にはさらに詳細な検索が必要と思われる。

4. 結論

これらの観察結果より、破歯細胞と破骨細胞は、形態学的に類似した細胞であることが再確認された。しかし、歯髄側象牙質の吸収では、破歯細胞が未石灰化組織である象牙前質に付着し、未石灰化基質の分解・吸収に関与していることが示され、この点において破骨細胞とは異なった機能を有していることが示唆された。また、今回の所見より、乳歯歯髄側象牙質の吸収過程では、まず象牙前質上に破歯細胞が出現し、次いで、破歯細胞周囲に単核小型細胞が現われ、吸収が活性化すると考えられた。

破歯細胞非存在部位には、ALPase陽性で発達した粗面小胞体とゴルジ装置を持つ単核小型の形成系細胞が位置していた。これらのALPase陽性細胞による吸収窩へのセメント質様組織の添加が認められ、修復機構の一部が明らかになった。また、その形態学的、酵素組織学的特徴から乳歯の吸収過程においても骨改造現象と同様に形成系細胞と吸収系細胞が共存し、その相互作用によつて破歯細胞の機能活性が調節されていると示唆された。

学位論文審査の要旨

ヒト乳歯の生理的歯根吸収・脱落は主に多核の巨細胞である破歯細胞によってもたらされ、吸収過程は活発な吸収が主に進行する吸収期、吸収窩にセメント質様組織が新生・添加される修復期と、その移行・転換期である休止期が繰り返され、間欠的に進行することが知られている。しかし、乳歯歯根吸収とそれに伴う象牙質吸収過程において、非石灰化象牙前質の吸収機序、修復期におけるセメント質様組織の添加機構、また破歯細胞の機能調節・制御機構は明らかにされていない。

そこで申請者は、吸収中期から後期にかけての健全乳歯を試料とし、光学顕微鏡、共焦点レーザースキャナ顕微鏡、コンタクトマイクロラジオグラフィー、走査型電子顕微鏡と透過型電子顕微鏡を用いて、組織細胞学・組

織細胞化学的に検索した。

その結果、破歯細胞は発達した波状縁、多数のミトコンドリアとライソゾームを持ち、酒石酸耐性酸性ホスファターゼ(TRAPase)活性陽性を示す多核巨細胞であり、破骨細胞と形態学的・細胞化学的に類似した細胞であることを確認した。また、TRAPase活性陽性を示す破歯細胞の突起は象牙細管の奥深くまで侵入し、象牙質・象牙前質吸収において重要な働きをしていることを示唆した。破歯細胞は象牙前質に直接誘導され、付着し、未石灰化象牙前質に吸収窩を形成し、破骨細胞とは異なり、未石灰化基質吸収能を持つ細胞であることを明らかにした。さらに、吸収窩へのセメント質様組織の新生・添加はアルカリ性ホスファターゼ活性陽性の単核小型間葉系

細胞によること、破歯細胞に隣接・近接している単核小型間葉系細胞は破歯細胞の誘導・分化・機能活性化に関与している可能性を示唆した。

骨組織の研究に比較し、解明が進んでいないヒト乳歯歯根吸収過程において、本研究は複数の観察方法と組織細胞化学的手法を組み合わせて、幾つかの重要な機序・

機構を示唆または明らかにした。これらの知見は今後、乳歯歯根吸収過程を研究・考察する上で、有益な基礎を築いたものといえる。また、実験方法および結果・考察・解釈も妥当である。

以上のことから、本論文は博士（歯学）の学位論文に値するものと判定した。

氏名・(本籍)	藏 口 潤 (東京)
学位の種類	博士 (歯学)
学位記番号	甲 第46号
学位授与の日付	平成9年3月21日
学位授与の要旨	学位規則第5条1項該当 (課程博士)
学位論文題目	細胞増殖因子がラット歯髄由来線維芽細胞に及ぼす影響 —特にPDGF-BBとIGF-Iの作用について—
論文審査委員	主査 教授 賀来亨 副査 教授 市田篤郎 副査 教授 武田正子

論文内容の要旨

緒言

歯髄は象牙質の機能維持を司る組織であり、歯髄の機能維持には細胞増殖因子が重要な役割を果たしていることが示唆されている。PDGF-BBおよびIGF-Iは、間葉系細胞の代表的増殖因子として知られ、in vitroにおいて間葉系細胞の増殖および遊走能を刺激することが知られている。またin vitroにおいては間葉系組織の創傷の治癒を促進することが報告されているが、両者の作用の違いについては、不明な点が多い。本研究では、PDGF-BBとIGF-Iの歯髄における作用をより詳細に知ることはそれらを歯髄創傷治癒促進薬として応用する上できわめて重要と考え、PDGF-BBとIGF-Iの歯髄由来線維芽細胞のin vitroにおける作用の違いを明らかにすることを目的に行われた。

材料および方法

1. 歯髄細胞の分離；5週齢ラットの上顎前歯を抜去、歯牙を切断後、歯冠部歯髄（中央部）を無菌的に分離、10%FBS-DMEM (penicillin G 100μg/ml, amphotericin B 3 μg/ml含有) にて培養、outgrowth法により増殖した細胞を継代し、ラット歯髄由来線維芽細胞とした。

なお、実験には継代3～5代目の細胞を用いた。

2. 分離歯髄細胞の性状；1) 形態学的観察。分離細胞が形態学的に歯髄細胞としての特性を有しているか否かを調べるために、位相差顕微鏡、走査型電子顕微鏡および透過型電子顕微鏡により形態学的観察を行った。2) 生化学的特性。同様に分離細胞が歯髄細胞の生化学的特性を供えているか否かを調べるために、pNPPを基質とした細胞Alkaline phosphatase (ALP) 活性を測定した。

3. 細胞増殖に及ぼす影響；PDGF-BBおよびIGF-Iの歯髄由来線維芽細胞における細胞増殖に及ぼす影響を、XTTを用いた細胞増殖assayにより濃度依存性（0～100ng/ml）に調べた。すなわち、96wellのdishに細胞3000個/wellを播種し、10%FBS含有DMEMにし24時間培養した後、無血清培地（0.2%BSA-DMEM）に交換、さらに24時間培養した。その後、各々の増殖因子(PDGF-BB, IGF-I)を0～100ng/ml添加し、24時間培養、XTT assayを行った。

4. 細胞分化に及ぼす影響；PDGF-BBおよびIGF-Iが