

本研究で得られた、唾液腺シンチグラフィ、シアログラフィならびに病理組織学的検索の結果は、それぞれの検査法で得られた時期的変化の関連性を反映させるものであり、臨床的応用に十分役立つものと考えられた。

以上の結果から、本論文は歯学に寄与するところが大であり、博士（歯学）の学位を授与するに値するものと判定する。

氏名・（本籍）	小 原 伸 子（宮城県）
学 位 の 種 類	博 士（歯学）
学 位 記 番 号	乙 第4号
学位授与の日付	平成5年3月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当（論文博士）
学 位 論 文 題 目	Expression of neural cell adhesion molecule (NCAM) during development of the molar teeth in the mouse
論文審査委員	主 査 教 授 武 田 正 子 副 査 教 授 矢 嶋 俊 彦 副 査 教 授 金 澤 正 昭

## 論 文 内 容 の 要 旨

細胞接着分子は細胞同士の接着を媒介する細胞表面の糖蛋白であり、発生過程では特定の時間的、空間的順序に従って発現され、胚発生あるいは器官形成において重要な役割を担っていると考えられている。神経細胞接着分子（Neural Cell Adhesion Molecule, NCAM）はそれらのなかでも、分子の遺伝学的性質、生化学的性質ともによく知られ、また、神経系以外にもさまざまな組織、器官の発生過程で発現されていることが知られている。この分子が歯胚でも発現されることが解ったので、マウス下顎臼歯歯胚の形成開始時から萌出までの過程でその分布がどのように変化するかを、免疫組織化学的方法により調べた。

第一臼歯歯胚の形成は胎生11日目に口腔上皮の肥厚として認められているが、NCAMは胎生12日目の蕾状期歯胚までは発現されていなかった。胎生13日目の後期蕾状期歯胚で歯胚の外縁に位置する間葉細胞がごく弱いNCAM陽性を示し、14日目の初期帽状期歯胚では分化し始めた歯小嚢が明瞭なNCAM陽性となった。その後、胎生18日目までの鐘状期歯胚では歯小嚢は抗NCAM抗体に強く染まったが、歯乳頭は胎生期を通じてNCAM陰性であった。象牙質形成が開始した出生後の歯胚では歯乳

頭の基底側にNCAM陽性細胞が見られたが、エナメル質の形成が開始し、歯乳頭への神経線維の侵入も始まっている生後6日目の歯胚でも歯乳頭におけるNCAMの分布は基底側に限られていた。しかし、歯根の分岐が完了した生後10日目の歯乳頭深部に、基底側にみられるNCAMとは分離したNCAM弱陽性の領域が出現し、この領域はその後の発生過程でNCAMの濃度、その広さともに増大して、生後30日目の萌出した歯では髓室から根管の上部にかけて歯髓の中心部が強いNCAM陽性を示した。一方、歯小嚢にみられるNCAMは、歯根の伸長とともに歯根に接する部分で歯頸部側から順次消失してゆき、生後12日目では歯冠部に接する部分と歯根部の根尖側とに二分して認められ、さらに歯根が伸長した生後16日目では歯冠部側のNCAMも消失した。しかし、根尖を取巻く組織だけはNCAM陽性のままであり、萌出後の生後30日目の歯でも歯根膜のうち根尖部に接する部分はNCAM陽性を示した。抗ニューロフィラメント抗体を用いた神経線維の観察結果との比較から、歯胚におけるNCAMの分布は歯胚に進入した神経がNCAM陽性であることだけでは説明できず、明らかに歯小嚢および歯乳頭の細胞自身によって発現されていると考えられる。ま

た、歯堤およびエナメル器の中にも、鐘状期まで一次的に少数のNCAM陽性細胞がみられ、エナメル器と口腔上皮の連絡が跡切れた後も歯堤の名残りの上皮細胞はNCAM陽性細胞として認められた。

第二臼歯歯胚の歯堤は胎生14日目に第一臼歯歯胚のエナメル器と連続してその後方に生ずるが、この時、歯堤の周囲に集まっている間葉細胞は強いNCAM陽性を示した。胎生15日目には第二臼歯歯胚は蕾状期となるが、この時期にもエナメル器を取囲む間葉細胞はNCAM陽性を示し、胎生16日目に帽状期歯胚となり歯小嚢が分化すると、歯小嚢は陽性、歯乳頭は陰性となり、同時期の第一臼歯歯胚と同様の分布となった。その後の発達段階においては、第二臼歯歯胚におけるNCAMの分布は第一臼歯と同様の経過を辿って変化した。即ち、象牙質形成が開始すると歯乳頭の基底部にはNCAM陽性の細胞が現れるが、歯乳頭の深部には、歯根がある程度形成された後に、これとは別の集団とおもわれるNCAM陽性細胞が現れ、発生の進行とともに強いNCAM陽性を示し、その領域も増大した。歯小嚢のNCAMは、歯冠部側では萌出に伴って口腔寄りの部分から消失し、歯根側では歯根の伸長と歯根膜の分化に伴い、歯頸部側から順次消失するが、萌出が完了した生後30日の歯でも根尖部にはNCAMが見られた。また、第三臼歯歯胚におけるNCAMの分布は第二臼歯歯胚の相当する発達段階と同様であっ

た。これらの結果は、第二および第三臼歯歯胚の発生に関与する間葉細胞は、第一臼歯、または第二臼歯の後方に伸展した歯堤の上皮細胞と相互作用をおこなう最初の段階では、全てNCAM陽性であり、歯小嚢と歯乳頭の細胞に分化すると、歯乳頭の細胞のみが陰性になることを示している。

以上の結果から、歯胚の発達過程においてNCAMは上皮性の細胞、間葉系の細胞の両方に発現することが明らかになった。帽状期におけるNCAMの分布は歯小嚢に限られており、この時期に歯胚に進入する神経線維は全て歯小嚢に進入することからNCAMは歯小嚢への特異的な神経進入を促している可能性がある。また、歯根形成期の歯小嚢においては、NCAMは歯周組織の分化が進行するのにともない消失することから、この分子が歯周組織の分化になんらかの役割を果たしている可能性も示唆された。歯乳頭の基底部にNCAMがみられる時期も歯乳頭への神経の進入開始の時期と一致するが、歯乳頭の深部に神経線維がみられる時期にもNCAM陽性領域の拡大はみられなかったことから、歯乳頭への神経の進入にNCAMが関与しているとしてもその初期に限られると思われる。歯乳頭の深部に出現するNCAMについては、明らかに神経線維ではなく歯乳頭の細胞自身によって発現されていると思われるが、どのような細胞によるかは明らかでない。

## 学 位 論 文 審 査 の 要 旨

歯胚の発生過程については、種々の研究があるが、歯胚を構成する上皮細胞と間葉細胞の相互作用、歯胚への神経の進入を誘導する因子などの詳細については不明のままである。細胞接着分子は、細胞膜にある糖蛋白で、胚子発生あるいは器官形成において、特定の時間的、空間的順序により発現し、細胞同志の接着を媒介するものである。この中の神経細胞接着分子(NCAM)は、神経細胞の他に、種々の組織、器官の発生過程で発現するが、歯胚の発達過程においても発現することが、本申請者の研究で判明した。このような報告は今まで全くないので、今回、本申請者は、胎生11日から生後30日までのマウスを用いて、下顎臼歯の形成過程におけるNCAMの分布について、免疫組織化学的方法により詳細に検索した。その結果、明らかになったことは以下の通りである。

1. 歯胚の発達過程においてNCAMは、上皮細胞、間葉細胞の両者に発現する。
2. 第一臼歯では、帽状期、鐘状期歯胚の歯小嚢にNCAM陽性細胞が見られる。この時期に歯胚に進入する神経線維の分布が歯小嚢に局限することから、

NCAMは歯小嚢への神経線維の進入を誘導する作用を持つことが推測される。

3. 歯小嚢のNCAMは、歯周組織の分化の進行に一致して消失することから、この分子が歯周組織の分化に関与すると考えられる。
4. 象牙質形成開始後には、歯乳頭基底部にNCAM陽性細胞と、神経線維の進入が同時に見られることから、歯乳頭への神経進入開始にもNCAMが関与することが推測される。
5. 第二臼歯、第三臼歯では第一臼歯と異なり、発生の最初の段階から蕾状期にかけて、集合している間葉細胞がすでにNCAMを持っている。このNCAMは、第一臼歯歯胚に連続する間葉細胞が集団で後方へ移動するさいに、細胞を結合させる役割を担うものと推測される。

本研究から、NCAMが、歯の形成過程の種々の段階に関与していることが示された。

以上より本論文は、口腔解剖学の進歩発展に寄与するものであり、審査の結果、学位授与に値すると判定した。