

〔学会記録Ⅱ〕

東日本歯学会第18回学術大会 一般講演抄録

1. Versicanの口腔上皮での発現に関する研究

○岡本 智博, 西村 学子, 三田村治朗,
安彦 善裕, 溝口 到*, 賀来 亨

(北海道医療大学歯学部口腔病理学講座・歯科矯正学講座*)

〔緒言〕Versicanは主として結合織中に存在するLarge chondroitin sulphate proteoglycanの一つである。口腔領域では、歯周組織の線維芽細胞をはじめ、歯髄細胞など、間葉系の細胞、組織について検索した報告が多く、上皮での局在様式はほとんど明らかにされていない。本研究では、Versicanの口腔上皮における役割を明らかにするために、in vivoおよびin vitroにおける発現様式を観察した。

〔材料および方法〕材料には、生後6ヶ月のブタ歯周組織、ラットの舌粘膜上皮、ブタ歯根膜から単離されたマラッセ上皮様細胞を用いた。組織は10%ホルマリン固定の後、通法に従いパラフィン切片を作製した。タンパク局在を検索するために、抗Versican抗体(5D5)を1次抗体とした免疫組織化学的検索を行った。また、同時に歯原性上皮のマーカーであるCK19抗体による染色も行った。

マラッセ上皮様細胞は0.03M Ca^{2+} 濃度(low)～1.8M Ca^{2+} (high)の条件下で培養を行い、免疫組織化学的検索および、Versicanのプライマーを用いたLightCycler™による定量的RT-PCR法を行った。

〔結果〕5D5は口腔上皮の基底細胞層および有棘細胞層の上皮細胞膜部に局在が、付着上皮では、内側基板側の1～2層の細胞に局在が確認された。また、マラッセ上皮には局在が認められなかった。一方、CK19はマラッセ上皮細胞および付着上皮の内側基板側の1～2層以外の細胞に局在が認められた。VersicanのmRNAはhighの方がlowよりも発現が強くなっていた。

〔考察と結論〕Versicanは歯原性上皮の分化および、口腔上皮の基底細胞層から有棘細胞層への形態維持に関与していることが示唆された。

2. エフネル腺導管管腔と有郭乳頭溝の発達過程

○永井 泰子, 鈴木 裕子, 小原 伸子,
武田 正子

(北海道医療大学歯学部口腔解剖学第二講座)

舌有郭乳頭を囲む輪状の溝と、溝の深部に開口する小唾液腺で漿液腺のエフネル腺の導管の管腔について発達過程を検索した。実験動物は、胎生18日から生後7日までのddYマウスを用いた。舌の有郭乳頭を含む組織を切り出し、アポトーシスを検出するDNA nick end labeling (TUNEL, TdT-mediated dUTP-nick end label-

ing)法、45kDのケラチン蛋白を検出するPKK3抗体を用いる免疫組織化学(酵素抗体法)、及び透過電子顕微鏡観察を行った。

胎生18日の有郭乳頭は、将来溝を形成する上皮索が表面上皮から結合組織へ進入し、さらにそこからエフネル腺となるやや細い上皮索が深部へ伸びていた。生後0日

以降、乳頭の上皮索の中央部の所々に小さな空隙が出現し、次第に数を増し、また大きくなり連なって癒合して網状となり、遂には表面に通じる溝を形成した。エフネル腺となる上皮索の中央部にも0日以降、所々に空隙が出現し、それが次第に縦に連なり癒合して管腔を形成するようになった。DNA nick end labeling法では、陽性細胞は生後0日から3日まで乳頭上皮索及び腺の上皮索の空隙の周囲に出現した。4日以降には陽性細胞はめったに見られなくなった。45kDのケラチンに対する抗体の反応では、0日以降、乳頭上皮索及び腺の上皮索に出現する大小の空隙周囲を囲む一層の細胞が陽性を示した。乳

頭では空隙が表面に通じると、その周囲の陽性細胞は消失したが、腺では空隙が癒合して完全な管腔が形成された後も、管腔周囲の一層の細胞は陽性のままとあった。電顕観察では、空隙周囲にアポトーシスに特有の高電子密度の均質な核を持つ細胞がみられた。また、上皮索中央部の細胞間には空隙形成直前までテスモソームが認められた。以上より、有郭乳頭溝とエフネル腺導管の形成において、上皮索中央部の空隙形成及びその癒合過程に、細胞のアポトーシスによる死と、細胞質の45kDのケラチン蛋白が関与すると推測される。

3. 卵巣摘出術 (OVX) はラットの切歯歯髓腔を減少させる

○澤木 健, 中出 修, 服部 裕歩,
小山 宏樹, 賀来 亨
(北海道医療大学歯学部口腔病理学講座)

〈はじめに〉 けっ歯頰の切歯は一生産、成長を続ける無根歯であることから、成熟後も骨代謝の変化をその機能や形態に反映させる可能性が考えられる。一方、ラットにおけるOVXは急速な骨粗鬆症をもたらすことから、閉経後の骨粗鬆症モデルとしてよく用いられているが、OVXがラット切歯の形態学的変化に及ぼす影響に関してはほとんど明らかにされていない。

〈目的〉 本研究はOVXがラット切歯の形態的变化に及ぼす影響を調べる目的で行われた。

〈方法〉 動物は、24匹の6か月齢のWistar系雌のラットを用い、それぞれ12匹ずつOVXあるいは偽手術(Sham)を施した。ラットはOVX群、Sham群ともに、10および26週で6匹ずつ屠殺し、OVXがラットの体重、子宮重量、DEXA法による骨密度(BMD)および切歯の形態(総切歯面積、歯髓腔の大きさ、エナメル質、象牙質、セメント質の面積)に及ぼす影響を調べた。なお、切歯の形態

は下顎を用い、第一臼歯歯冠近心面に接し近心根に平行なライン上で切歯の非脱灰横断研磨標本を作製し、形態計測によって評価した。

〈結果〉 1 OVXは手術後10週および26週のいずれにおいても有意に体重の増加、子宮重量の減少および脛骨のBMDの減少をもたらした。2 OVXは手術後、10週および26週のいずれにおいても切歯総面積に有意な影響を与えず、象牙質の厚みを有意に増加させ、歯髓面積を有意に減少させた。

〈結論および考察〉 本研究によって卵巣摘出は、象牙質の厚みを増し、ラットの歯髓腔面積減少を引き起こすことが明らかになった。これまで卵巣摘出術の成否の確認は体重の増加、子宮重量の減少および骨密度の減少などによってなされてきたが、けっ歯頰においてはこれらに加えて切歯歯髓腔の減少もその指標となる可能性がある。