



氏 名 馮 新 顔 (1969年9月24日生)
 本 籍 地 中華人民共和国
 学位の種類 博士 (歯学)
 学位授与番号 岩医大院歯博第181号
 学位授与の日付 平成15年3月25日
 学位授与の条件 学位規則第4条第1項該当者 (博士課程修了者)
 学位論文題目 Transmission and scanning electron microscopic observations of epithelial-mesenchymal interface of rat tooth germs using dithiothreitol separation
 (ジチオスライトール剥離法を用いたラット歯胚における上皮・間葉のインターフェースの透過型及び走査型電子顕微鏡による観察)

論文内容の要旨

I. 研究目的

内エナメル上皮基底膜には間葉組織側に無周期性原線維が存在し、その形態は歯胚発生の過程で著明な変化を示す。無周期性原線維の超微細構造は主に透過型電子顕微鏡 (TEM) で研究されてきたが、基底膜の間葉組織側の露出が困難なため走査型電子顕微鏡 (SEM) では観察がなされていない。ジチオスライトール剥離法は、表皮、粘膜炎上皮基底膜の結合組織側を露出する有用な方法として知られている。本研究はこの剥離法を歯胚に応用し、ジチオスライトール処理による歯胚組織の発生の各段階における内エナメル上皮基底膜の露出部位を TEM 及び SEM で観察し、無周期性原線維の超微細構造、特にその立体構造を観察した。

II. 研究方法

生後12~18時間の Jcl Wistar ラットの顎第一臼歯の歯胚 (鐘状期後期) を摘出し、0.03M ジチオスライトール溶液 (0.01M PBS, pH7.4, 室温) にて30分間インキュベーションした後、エナメル器と歯乳頭を部分的に剥離した。剥離した歯胚は浸漬固定及び後固定を行い、エタノールで脱水した。試料の一部は通法通りにエポキシ包埋後、超薄切片を作成し、酢酸ウランとクエン酸鉛の二重電子染色を施し、TEM で観察した。他の試料は2-メチル-2-プロパノールに置換し、凍結乾燥、オスミウムコーティングを施し、SEM で観察した。

III. 研究成績

ジチオスライトール剥離法によるエナメル器と歯乳頭が剥離した部位は歯胚組織の発生段階によって変化が見られた。歯胚の組織が幼弱で、無周期性原線維が十分に発達していない部位では、分離は内エナメル上皮基底膜と歯乳頭の境界で起こり、基底膜の間葉組織側に無周期性原線維が露出された。無周期性原線維が発達するにつれて、象牙前質のコラーゲン線維の形成も観察された。これらの部位では、分離は歯乳頭の表層あるいはエナメル上皮と基底膜の境界で起こり、無周期性原線維は十分に露出されなかった。TEM 及び SEM の観察により露出された無周期性原線維の表面には側鎖様の構造が見られた。発達した無周期性原線維同士及び無周期性原線維と象牙前質のコラーゲン線維はこの側鎖によって結合し、特徴的な平行配列を示した。無周期性原線維はその遠心端で互いに結合してネットワークを形成し、時にはループ状に走行する立体構造を示した。

IV. 考察及び結論

1. ジチオスライトール剥離法による内エナメル上皮基底膜の間葉組織側の露出は、歯胚組織が幼弱な部位でのみ可能であった。
2. ジチオスライトール処理による内エナメル器と歯乳頭の分離部位の変化は、歯胚組織の発育に伴う変化と関連

すると考えられた。

3. 露出された無周期性原線維は表皮, 粘膜上皮基底膜に存在するアンカリングフィブリルと類似した立体構造を示し, 無周期性原線維は内エナメル上皮基底膜と歯乳頭間葉組織を結合する役割を果たしていることが示唆された。
4. 無周期性原線維と象牙前質表層のコラーゲン線維が側鎖様の構造によって結合し, 互いに平行に配列しているという所見は無周期性原線維が象牙質表層のコラーゲン線維の配列と関連していることを示唆した。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 野 坂 洋一郎 (口腔解剖学第一講座)

副査 教授 名 和 橙黄雄 (口腔解剖学第二講座)

副査 教授 佐 藤 方 信 (口腔病理学講座)

内エナメル上皮の基底膜には間葉組織側に無周期性原線維が存在し, その形態と分布は歯胚の構成細胞の分化段階により著明な変化を示す。この無周期性原線維の超微構造は透過電子顕微鏡を用いて研究がなされてきたが, 基底膜の間葉組織側を露出するのが困難なため走査電子顕微鏡による立体的な検索は行われていない。そこでジチオスライトール剥離法を用いて内エナメル上皮基底膜の結合組織側を露出させ立体的に観察をおこなった。

ジチオスライトール処理により剥離された基底膜の結合組織側には無周期性原線維が立体的に錯綜して付着していた。この無周期性原線維には側鎖のような構造が認められた。象牙前質表層のコラーゲン線維と無周期性原線維の側鎖様の構造が結合し, 互いに平行に配列していた。内エナメル上皮の分化と無周期性原線維の構造と分布は関連が深く, 内エナメル上皮の基底膜と歯乳頭間葉組織を結合する役目を担っているものと考えられた。本研究の結果は歯胚の細胞分化に示唆を与えるものであり, 歯科臨床における歯の再生に基礎的情報を提供するものであり, 学位論文に値すると評価した。

試験・試問の結果の要旨

本研究について, 基底膜の基本的な構造, 歯胚形成細胞の分化, 上皮細胞と間葉細胞の相互作用, さらに今後の研究の発展性について試問したところ, 適格な解答が得られた。したがって, 十分な学識と研究を推進する能力を有しており, 学位授与に値すると認めた。