



氏名 熊上 亮 (昭和33年6月24日)  
 本籍地 岩手県  
 学位の種類 博士(歯学)  
 学位授与番号 岩医大歯博第106号  
 学位授与の日付 平成16年9月13日  
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当者(博士の学位論文提出者)  
 学位論文題目 正常ラット口蓋粘膜におけるメルケル細胞の脱落とアポトーシスの有無について

## 論文内容の要旨

### I. 研究目的

メルケル細胞は上皮基底層に存在する触覚受容細胞と見なされてきた。最近、哺乳類の口腔粘膜には神経と接合しないメルケル細胞の存在することが判明し、このメルケル細胞の機能については不明であるが、我々はその形態学的な特徴から、これらの細胞が何らかの分泌機能を果たしている可能性を示唆してきた。とくに、ラット口蓋ヒダ後方領域では非神経接合型メルケル細胞が多い。口蓋ヒダ後方領域には異所性に分布するメルケル細胞が多く、さらに生後の一定時期に著しく細胞密度の減少する傾向がみられた。本研究では、この口蓋ヒダ後方領域におけるメルケル細胞密度の変化について精査し、この細胞密度の減少が異所性細胞のアポトーシスの結果であるかどうかについて検討した。

### II. 研究方法

生後14日～90日齢ラット38匹を用いた。いずれもペントバルビタール腹腔投与による深麻酔後、0.01M リン酸緩衝4%パラホルムアルテヒド液にて還流固定を行った。実験1群は14, 21, 28, 60, 90日齢で口蓋を摘出し、脱灰後パラフィン切片とした。実験2群は30, 45, 60, 90日齢の口蓋ヒダ後方領域の剥離粘膜標本を作製し、再固定後パラフィン切片とした。切片は脱パラ後、前処理を行って、monoclonal 抗ヒトcytokeratin18抗体で免疫組織化学的にメルケル細胞を染色して細胞数を算出した。実験1群では切片上で粘膜の長さを測定し、口蓋ヒダ後方領域上皮の単位長当たりのメルケル細胞数を算出した。実験2群では全連続切片中のメルケル細胞を数え、その半数を1口蓋ヒダ後方領域当たりのメルケル細胞数とした。統計学的な有意差はt検定で検定した。アポトーシスはMBL社製MEBSTAIN apoptosis Kitを用いてDNA Nick End Labelingとcytokeratin18抗体による二重蛍光標識を行い、レーザー顕微鏡を用いて2波長チャンネル法で観察した。

### III. 研究成績

#### 口蓋ヒダ後方領域部のメルケル細胞分布

1. 実験1群では口蓋ヒダ後方領域粘膜上皮の単位表面長当たりのメルケル細胞密度は生後28日までに急激な増加がみられたが、その後は有意に減少した。
2. 実験2群における1口蓋ヒダ後方領域当たりのメルケル細胞数は30日以降、経日的に有意に減少傾向を示した。

#### 異所性メルケル細胞とアポトーシスについて

3. 本来メルケル細胞は上皮基底層に分布するが、口蓋ヒダ後方領域上皮にメルケル細胞が増加するにつれ、基底層のみならず有棘層や表層にも多数のメルケル細胞が異所性に認められるようになった。
4. Nick End Labelingとcytokeratin18抗体で二重標識したメルケル細胞を調べた結果、333個の基底層メルケル細胞と39個の異所性メルケル細胞にはいずれもアポトーシスを示す反応は認められなかった。

#### IV. 考察および結論

正常な動物において、メルケル細胞の実数が減少することを明らかにしたのは本論文が初めてである。さらに本研究では、口蓋ヒダ後方領域におけるメルケル細胞の減少の時期に多くの異所性メルケル細胞が上皮有棘層や顆粒層中に観察されたか、粘膜固有層内には観察されなかった。このことは、メルケル細胞が上皮表面から脱落することを示唆している。異所性メルケル細胞は形態的には平滑な細胞であり、積極的な遊走による脱落よりは、周辺のケラチノサイトと共に表層に押し上げられて脱落するものと考えられる。

メルケル細胞の脱落にアポトーシスか関与するか否かを、Nick End Labeling 法で検討したか、脱落中の異所性メルケル細胞の全てに DNA の断片化が検出されなかったことから、アポトーシスを起した細胞が脱落に陥ったとは考えられなかった。

#### 論文審査の結果の要旨

##### 論文審査担当者

主査 教授 名 和 橙黄雄 (口腔解剖学第二講座)

副査 教授 野 坂 洋一郎 (口腔解剖学第一講座)

副査 教授 佐 藤 方 信 (口腔病理学講座)

メルケル細胞は上皮基底層に存在する触覚受容細胞と見なされてきた。最近、哺乳類の口腔粘膜には神経と接合しないメルケル細胞の存在することが判明し、このメルケル細胞の機能については不明である。とくに、ラット口蓋ヒダ後方領域ではこの非神経接合型メルケル細胞が多い。さらに、口蓋ヒダ後方領域には異所性に分布するメルケル細胞が多く、生後の一定時期に著しく細胞密度の減少する傾向がみられた。

本研究で、この口蓋ヒダ後方領域におけるメルケル細胞密度の変化について精査し、この細胞密度の減少が異所性細胞のアポトーシスの結果であるかどうかについて検討した。

その結果、生後30日前後からメルケル細胞が急速に減少することが明らかになり、それともなって上皮中に異所性のメルケル細胞の増加が認められた。本研究では、これらの異所性メルケル細胞がアポトーシスによって排除されるのかどうかについて、Nick End Labeling 法で検討した。結果として、メルケル細胞の脱落にはアポトーシスの関与は認められなかった。したがって、異所性メルケル細胞の移動は、積極的な遊走ではなく、ケラチノサイトの表層移動ともなう受動的な移動と考えられる。

本研究は正常組織におけるメルケル細胞の減少を初めて明らかにしたものであり、さらに上皮中に移動する、異所性メルケル細胞の脱落過程を明確にした論文である。

#### 試験・試問の結果の要旨

本論文の要旨について明解な説明がなされ、関連項目に関する試問に適切な解答が得られ、十分に学識と研究能力を有すると認めた。