

氏名	きく ち むね のり 菊池宗法
学位の種類	博士(歯学)
学位授与番号	岩医大院歯博第261号
学位授与の日付	平成23年3月7日
学位論文題目	The distribution of lymphatic vessels in the periodontal ligament during tooth root formation. 歯根形成期歯根膜のリンパ管分布について

論文内容の要旨

I 研究目的

歯周組織の1つである歯根膜は、矯正治療における歯の移動の際頻繁にリモデリングが行われ、脈管系でも多くの変化を示す部位である。過去の成体マウスにおける歯根膜リンパ管の報告では、歯根中央1/3にはリンパ管の分布がみられず、歯根膜に咬合力からの刺激が影響することでリンパ管が消失することを推察した。そこで臼歯口腔内未萌出の時期であれば、外力の刺激がほとんどない状態の観察が可能であり、また歯根形成期における歯根膜部のリンパ管分布を観察できると考えた。本研究では、下顎第一臼歯が口腔内未萌出の時期にあるマウス(PN-0, 7, 14日齢)を用いて、下顎第一臼歯歯胚周囲におけるリンパ管の分布状況および分布範囲について免疫組織化学的手法を用いて検索することを目的とした。

II 研究方法

実験動物として、C57BL/6 マウス (Clea Japan, Osaka, Japan) 雄5匹、雌5匹を飼育・繁殖させ、生まれた新生仔を使用した。実験に用いた新生仔の日齢は、生後(PN)0日齢、PN-7日齢、PN-14日齢であり、各日齢5匹ずつ合計15匹を使用した。試料は、マウスをソムノペンチル®腹腔内過麻酔にて屠殺した後、頭部を頸部で切断し作製した。試料は未固定・非脱灰の状態、液体窒素にて冷却したヘキサン中で5% carboxymethyl cellulose に凍結包埋を行った。その後、cryostatを用いて、タングステンカーバイドブレードでFilm-transfer法にて3μm厚の前額凍結連続切片を作製した。作製した連続切片は、LYVE-1を1次抗体に用いた免疫組織化学染色を行い、ヘマトキシリンにて対比染色を施した後、30%グリセリンにて封入を行った。その後、冷却3CCDカメラ装着の光学顕微鏡で観察後、二次元像として撮影し、リンパ管の同定、歯胚および歯胚周囲組織の観察を行った。

III 研究成績

1. 口腔上皮、付着歯肉上皮において管様構造を示すリンパ管が観察された。口腔上皮では、多くは上皮寄りに観察されたが、付着歯肉上皮ではほぼ全体的に分布するリンパ管が観察されており、口腔上皮の傾向とは異なっていた。さらに付着歯肉上皮においては、歯槽に沿うように分布するリンパ管も観察された。
2. 下顎管内の観察において、下顎管内壁と下歯槽神経との間に、管様構造を呈さないリンパ管がPN-0日齢を除く日齢で観察された。
3. 将来の歯根膜相当部である歯冠形成部、歯根形成部および歯根形成最先端部では、管様の構造を呈さないLYVE-1陽性構造物が観察されたが、リンパ管とは同定されなかった。LYVE-1陽性構造物は、観察したすべての日齢で確認され、どの部位でも全体的に不規則な分布が観察された。

IV 考察及び結論

本研究の観察では、歯胚周囲の口腔上皮、付着歯肉上皮および下顎管内においてリンパ管が観察されたが、

臼歯口腔内萌出後に歯根膜に相当する部位においてリンパ管は観察されず、咬合力の影響がない歯根形成期からリンパ管は分布していないことが示唆された。今回の観察部位を歯槽を境として考察すると、歯槽外面である area 2 ではリンパ管が観察されたが、歯槽内面で歯根膜相当部の area 3, 4, 5 にはリンパ管が観察されなかった。骨において、これまでに骨周囲の骨膜上にリンパ管が存在するとの報告がなされていることから、骨膜が存在する area 2 ではリンパ管が観察されたが、骨膜のない area 3, 4, 5 では観察されなかったのではないかと考えられる。また成体マウス歯根膜リンパ管における研究で、根尖部に LYVE-1 陽性リンパ管が観察されており、さらに齧歯目であるラットを用いたリンパ管観察では、下顎管から歯根膜部へ走行するリンパ管が確認されている。本研究は歯根形成期にあり、根尖が未完成の時期であったが、PN-14 日齢までリンパ管が分布していない萌出後の歯根膜相当部、特に根尖相当部においては、根尖が完成する時期に分布することが推察される。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 三浦 廣行 (口腔保健育成学講座 歯科矯正学分野)
副査 教授 原田 英光 (口腔機能構造学講座 口腔組織学分野)
副査 教授 武田 泰典 (口腔病因病態制御学講座 口腔病理学分野)

矯正治療における歯の移動に伴い、歯根膜を含む歯周組織ではリモデリングが行われ、脈管系においても変化を生じる。歯根膜におけるリンパ管の形成については、詳細に調べられていない。増山らは、成体マウスにおける歯根膜リンパ管について報告した。そこで本研究では、歯根発生期にあるマウス歯根膜部のリンパ管分布状況を、リンパ管内皮細胞の特異的マーカーである LYVE-1 を用いて、免疫組織化学的に検索した。

LYVE-1 陽性リンパ管は、口腔上皮下、付着歯肉上皮下および下顎管内では下歯槽神経の神経上膜内に相当する位置への分布が観察された。一方、歯槽の内面および歯胚周囲で臼歯萌出後に歯根膜に相当する部位での LYVE-1 陽性リンパ管の分布は観察されなかった。

このことから、成体マウスで根尖を除く歯根膜リンパ管が観察されなかった部位においては、発生初期からリンパ管が分布していないことが示唆され、根尖部では根尖が完成する時期にリンパ管が分布することが推察された。

本論文は、臼歯口腔内萌出前における歯周組織および歯根膜部のリンパ管分布について示し、歯周組織リンパ管の発生過程解明の一助となり得るものと考えられ、学位論文に値する研究であると評価した。

試験・試問の結果の要旨

本論文の目的、概要について説明がなされ、研究方法、結果に対する考察ならびに基礎となる解剖、組織学的知識について試問した結果、適切な回答が得られた。よって、学位に値する十分な知識と研究能力を有すると認められた。