

氏名	さかのみか 坂野深香
学位の種類	博士(歯学)
学位授与番号	岩医大院歯博第290号
学位授与の日付	平成25年3月8日
学位論文題目	Cell dynamics in cervical loop epithelium during transition from crown to root: implications for Hertwig's epithelial root sheath formation. - 歯冠形成から歯根形成への移行期におけるサービカルループ上皮の細胞動態：ヘルトビッヒ上皮鞘形成について -

論文内容の要旨

I 研究目的

Hertwig's epithelial root sheath (HERS) は、エナメル器の Cervical loop (CL) に由来する上皮細胞によって形成され、歯根の象牙質形成を誘導していると考えられている。しかし、その発生のメカニズムは未だ解明されていない。HERS 形成や成長が不十分であると、歯根形成が起らないことや短根歯が作られる。そこで本研究では、歯根発生時期の CL での細胞増殖の変化や細胞動態、遊走性を観察することで、歯根形成のメカニズムを解明する。

II 研究方法

1. HERS が形成される前の外エナメル上皮と内エナメル上皮の細胞増殖の変化を分析するために、P1,3,5 マウスの下顎第一臼歯歯胚での Ki67 の発現について免疫染色を行った。
2. DiI ラベリング法と器官培養によって、HERS 形成過程の CL の細胞動態を観察した。
3. 細胞の動きに関与する Paxillin の発現について、免疫組織学的に検索を行った。

III 研究成績

1. Ki67 免疫染色を行った結果、P1 における細胞増殖は外エナメル上皮よりも内エナメル上皮の活性が高かった。P3 ではわずかに外エナメル上皮の細胞増殖活性が優位になり、P5 では完全に外エナメル上皮の細胞増殖活性が優位になった。
2. 外エナメル上皮を DiI でラベリングした後、その細胞の動態をタイムラプスで撮影しビデオを作製した結果、外エナメル上皮の細胞が CL を越えて伸長している状態が観察された。
3. 免疫染色の結果は、Paxillin が外エナメル上皮と HERS に強く発現することを示した。

IV 考察及び結論

歯根発生時期において CL の細胞は、内エナメル上皮よりも外エナメル上皮の方が細胞の増殖性や移動能力が高いと推測され、HERS の形成には外エナメル上皮が重要な働きをしていることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 佐原 資 謹 (生理学講座 病態生理学分野)
副査 教授 佐藤 洋 一 (解剖学講座 細胞生物学分野)
副査 教授 原田 英 光 (解剖学講座 発生生物・再生医学分野)

Hertwig's epithelial root sheath (HERS) は、エナメル器の Cervical loop (CL) に由来する上皮細胞によって形成され、歯根の象牙質形成を誘導していると考えられている。しかし、その発生のメカニズムは未だ解明されていない。HERS 形成や成長が不十分であると、歯根形成が起らないことや短根歯が作られる。そこで本研究では、歯根発生時期の CL での細胞増殖の変化や細胞動態、遊走性を観察することで、歯根形成のメカニズムの一端を解明した。

HERS が形成される前の外エナメル上皮と内エナメル上皮の細胞増殖活性の変化を分析するために Ki67 免疫染色を行った結果、P1 における細胞増殖は外エナメル上皮よりも内エナメル上皮の活性が高かった。P5 では完全に外エナメル上皮の細胞増殖活性が優位になった。CL の細胞動態を検索するために外エナメル上皮を DiI でラベリングした後、その細胞の動態をタイムラプスで撮影しビデオを作製した結果、外エナメル上皮の細胞が CL を越えて伸長している状態が観察された。リアルタイムイメージングによって得られた細胞の遊走性を検証するために細胞の遊走性に関する Paxillin の発現を免疫組織学的手法によって観察した結果は、Paxillin が外エナメル上皮と HERS に強く発現することを示した。

歯根発生時期において CL の細胞は、内エナメル上皮よりも外エナメル上皮の方が細胞の増殖性や移動能力が高いと推測され、HERS の形成には外エナメル上皮が重要な働きをしていることを示唆するものであった。

これらの成果は、歯根発生時期の CL における外エナメル上皮の活発な細胞の遊走性とそれに伴う HERS 伸長の変化を器官培養とリアルタイムイメージングを用いて観察したものであり、先天性の遺伝子疾患における短根歯や歯根形成が起らないメカニズムの解明において新たな知見になると考えられる。

試験・試問の結果の要旨

主論文内容の発表を行い、主論文内容及び専攻学術についての口頭試問をもって実施した。

主論文ならびに参考論文に関する詳細な質問の他、主査は歯根の形成方向や形成終了の機序、歯根吸収の機構、歯の萌出順序のシグナル発現の有無について、副査は歯の発生や今後の展望について試問したが知識は概ね適切であった。

その結果、坂野深香は、本大学院研究科博士課程を修了して学位を授与される者と同等以上の学識を有することを確認した。