

Title	Immunohistochemical localization of elastin, fibrillins and microfibril-associated glycoprotein-1 in the developing periodontal ligament of the rat molar
Author(s)	菅原, 優
Journal	歯科学報, 111(1): 86-87
URL	http://hdl.handle.net/10130/2303
Right	

氏名(本籍)	菅原優 (岩手県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第1764号(甲第1039号)
学位授与の日付	平成20年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Immunohistochemical localization of elastin, fibrillins and microfibril-associated glycoprotein-1 in the developing periodontal ligament of the rat molar
掲載雑誌名	Journal of Periodontal Research 第45巻 52~59頁 2010年
論文審査委員	(主査) 柳澤 孝彰教授 (副査) 井出 吉信教授 下野 正基教授 中川 寛一教授

論文内容の要旨

1. 研究目的

弾性系線維は Elastin と Microfibril(MF)で構成され、両者の混合比率によりそれぞれオキシタン線維、エラニン線維および弾性線維の3種類に分類されている。歯根膜では、オキシタン線維のみが分布していると考えられてきたが、最近、本講座の研究からエラニン線維も混在することが明らかとなった。しかし、この機能の詳細は不明である。一方、弾性系線維形成において重要な働きをする MF は、組織の発生や機能に応じてその組成を異にすることが知られているが、歯根膜に分布する MF の組成については未だ十分に解明されていない。本研究は、発育から咬合機能開始までの歯根膜を対象に、弾性系線維を構成する主要タンパクの分布を免疫組織化学的に比較検討した。

2. 研究方法

材料は生後19日、3週、5週および7週の Wistar 系ラット20匹で、全身麻酔下でパラホルムアルデヒド灌流固定を行い、歯牙を含む下顎骨を採取した。これをさらに同固定液で6時間浸漬固定し、緩衝液で洗浄、EDTA で脱灰した後、試料を急速凍結し、第一臼歯部歯根膜を含む水平断および矢状断連続凍結切片を作製した。また、未固定の新鮮材料を急速凍結した連続非脱灰凍結切片も併せて作製した。Elastin, Fibrillin-1, Fibrillin-2 および MAGP-1 に対する一次抗体(希釈倍率 1 : 100)を用いた酵素抗体法間接法により免疫組織染色を施行し DAB で発色後、光学顕微鏡で検鏡、画像を取得して、その反応産物をプロットし、歯根膜における分布構築を行った。

3. 研究成績および結論

Elastin : 19日齢ラットにおいては観察した全ての個体で、発育中の歯根膜に Elastin の発現を認めなかった。3週齢になると歯冠が口腔に萌出するが、咬合はまだ開始していない。この時期では根尖部の歯根膜に局限して Elastin 陽性線維を認める例が少数認められた。しかし、多くの個体では、依然 Elastin の発現を認めなかった。5週齢になると、第一臼歯は咬合位に達し、咬合機能を営む様になる。この時期には根尖部歯根膜に、明瞭な Elastin の発現が認められた。特に、歯軸方向に走行する血管周囲に限定した局在を示した。7週齢でも5週齢と同様な分布がみられたが、陽性線維の数と、染色の強度は増していた。

Fibrillin-1/-2 : Fibrillin-1 については今回用いた全ての抗体で、明らかな陽性像は確認できなかった。Fibrillin-2 は、19日齢の発達中の歯根膜において、広範囲に発現していた。5週および7週齢になると陽性線維の長さが増し、良く発達した血管網に沿ってほぼ歯軸に沿って平行に走行していた。その内の一部は、走行を途中で変えて歯根に向い、歯頸部セメント質に侵入していた。歯根分岐部には、多数の線維が歯槽骨と歯根の間を結ぶように走行していた。

MAGP-1 : 19日齢では、MAGP-1 陽性線維は発達中の歯根膜に多数分布していた。分布のパターンと染色強度は Fibrillin-2 のそれに類似していた。歯根の発達と共に、陽性線維は数と太さを増加し、歯根膜の広い範囲に分布していた。ただし、7週齢になると、根尖部における染色強度は Fibrillin-2 の染色に比べてやや低下傾向を示した。

以上、Elastin は臼歯咬合の開始に同調するように歯根膜に発現し、さらに MF に組み込まれてエラウニン線維を構築することが明らかとなった。エラウニン線維は弾性を有していることから、咬合によって生じる血管配列の変位を本来の位置に修復する機能を担っているものと推測される。今回の研究で、歯根膜の MF には、少なくとも Fibrillin-2 と MAGP-1 が局在し、これらはオキシタラン線維とエラウニン線維形成に重要であるのみならず、これらが保有する各種の生理活性により、歯根膜の恒常性維持にも深く関与していることが示唆された。

論文審査の要旨

歯根膜中の弾性系線維については不明な点が多い。特にエラスチンの発現時期、MF の構成成分および機能については十分な解析は行われていない。本論文は、弾性系線維の基本構造である MF の構成要素の内、Fibrillin-1, Fibrillin-2, MAGP-1, および Elastin に焦点を絞り、これらの局在について発育中の歯根膜を対象に免疫組織化学的に検討したものである。その結果、歯根膜においてその存在に論議のあったエラスチンが、動物の咬合開始に同調して出現し、その局在は咬合の負荷が特にかかる部位に特異的であり、歯根膜が成熟するにつれて発現が増すこと、また、咬合開始以前の未熟な歯根膜に Fibrillin-2 と MAGP-1 が存在することを明確に示し、その分布状況からこれらがオキシタラン線維の構成成分であることを明らかにした。機能については今後の研究が必要と思われるが、本論文により、咬合に関連して血管の保持、さらに歯根膜内に生じる環境の変化に対応した恒常性の維持に深く関与することが示唆された。

審査委員会は、まず研究目的と方法論の妥当性、写真の質、線維の構造と機能に関する考察、論文全体の論理の展開などについて検討し、十分な水準に達していると評価した。次いで論文提出者に、1) 研究方法について、特に微細構造的観察の必要性、2) 線維の走行と咬合機能および歯牙萌出との関連性、3) 新規タンパクである DANCE の歯根膜における発現などを質問した。その結果、全ての質問に対し概ね妥当な解答が得られた。なお、結果における図の記載方法について指摘があり、後日、修正された原稿を審査委員それぞれが再度チェックした。以上より本研究で得られた研究成果は、今後の歯学の進歩発展に十分貢献するものであると評価され、学位授与に値するものと判定した。