

Title	No. 4 : 上皮・筋ハイブリット型細胞シート合成過程に発現する細胞骨格関連タンパク
Author(s)	梅澤, 貴志; 山根, 茂樹; 比嘉, 一成; 島崎, 潤; 井出, 吉信; 阿部, 伸一
Journal	歯科学報, 113(2): 198-198
URL	http://hdl.handle.net/10130/3054
Right	

No.3 : ヒト上顎骨前歯部及び臼歯部皮質骨における生体アパタイト結晶配向性解析

笠原正彰¹⁾²⁾, 木下英明¹⁾²⁾, 松永 智¹⁾²⁾, 吉成正雄²⁾, 森岡俊行²⁾, 井出吉信¹⁾, 阿部伸一¹⁾²⁾
 (東歯大・解剖)¹⁾ (東歯大・口科研)²⁾

目的: 顎骨は、咀嚼機能圧など歯を介して受けるメカニカルストレスによって構造的な変化を生じることが知られている。しかしながら、骨に加わるメカニカルストレスの影響を評価することが容易でないことから、そのメカニズムに関しては報告が少ない。近年、骨質を構成する一つである生体アパタイト (BAp) 結晶の配向性が、局所応力(local stress)と密接に関連することが報告された。この報告により BAp 結晶配向性は、骨密度 (BMD) よりも局所応力に鋭敏に反応することが明らかとなった。しかしながら、ヒト顎骨に関する BAp 結晶配向性に関する報告は少なく不明な点が多く残されている。そこで本研究では、ヒト上顎骨の BMD 及び BAp 結晶配向性の定量的評価を行った。

方法: 試料は正常咬合を有するヒト上顎骨とし、関心領域を中切歯部および第二小臼歯部に設定した。中切歯部では歯槽部と鼻腔底部、臼歯部では歯槽部と上顎洞底部に対して、BMD 計測と BAp 結晶配向性の測定を行った。BMD 値は、試料をマイクロ CT にて撮影後、その CT 値を変換することで計測した。そして計測には、3D 骨梁構造計測ソフトウ

エアを用いた。一方、BAp 結晶配向性は二種類の微小領域 X 線回折装置を使用し測定した。その後 (002) と (310) の X 線回折ピークを用いて回折強度比を求めることにより算出した。

成績および考察: 中切歯部における歯槽部と鼻腔底部、第二小臼歯部における歯槽部と上顎洞底部において BMD 値に有意な差は認められなかった。BAp 結晶配向性では、鼻腔底部及び上顎洞底部共に近遠心方向に配向性が認められた。このことは鼻腔底部及び上顎洞底部では形態の維持のためであると推測された。一方、歯槽部では前歯部において舌側方向、臼歯部では頬側方向に強い配向性が認められた。これまでの報告から前歯部皮質骨は唇側よりも舌側、臼歯部皮質骨では舌側よりも頬側において皮質骨の肥厚が見られることがわかっている。今回の実験より、歯槽部では前歯部において舌側方向、臼歯部では頬側方向に強い BAp 配向性が認められた。このことから歯牙を介して加わるメカニカルストレスによって咀嚼荷重方向に配向性があると考えられた。

No.4 : 上皮・筋ハイブリット型細胞シート合成過程に発現する細胞骨格関連タンパク

梅澤貴志¹⁾, 山根茂樹¹⁾²⁾, 比嘉一成²⁾³⁾, 島崎 潤²⁾³⁾, 井出吉信¹⁾, 阿部伸一¹⁾²⁾
 (東歯大・解剖)¹⁾ (東歯大・口科研)²⁾ (東歯大・市病・眼科)³⁾

目的: 近年、咽頭癌や食道癌など広範な粘膜摘出後に自己細胞による口腔粘膜細胞シートの応用が試みられている。しかしながら粘膜直下の筋層の再構築までは困難なことから治癒後の咀嚼・嚥下機能障害という問題点が指摘されている。これまでに我々は C2C12 筋芽細胞シート上に日本家兎口腔粘膜上皮細胞シートを積層させた上皮細胞筋芽細胞ハイブリットシートを開発し、構造維持に重要な細胞骨格タンパクや接着タンパクの観察を行ってきた。今回は日本家兎の口腔粘膜上皮細胞シートと骨格筋筋芽細胞シートの積層シートを作製し、構造維持に重要な中間径フィラメントと接着タンパクの発現に関して経時的に検索を行った。

方法: 上皮細胞シート及び筋芽細胞シート作製のために日本家兎の口腔粘膜上皮細胞及び筋芽細胞を採取した。上皮細胞シートの培養は MMC 処理した 3T3 Feeder と、基質として fibrin を使用し、培養液には SHEM (増殖因子含有 DMEMF12 10%FBS) を使用した。筋芽細胞シートの培養は日本家兎の口腔から採取した筋芽細胞をアドバンスト D-MEM (10%FBS) を培養液として用い、インサート上に播種し培養した。シート作製後、筋芽細胞シート上

に上皮細胞シートを積層し、培養を続けた。培養 1, 3, 5, 7 日目の組織切片を作製し、形態学的観察のため HE 染色を行い、細胞骨格タンパク、接着タンパクの局在を観察するため免疫組織化学的染色を行った。さらに共焦点顕微鏡による三次元的観察を行うとともに、Real-time PCR 法による発現量の比較も行った。

成績および考察: 上皮細胞層、筋芽細胞層ともに経時的に厚みを増しているのが確認された。免疫組織化学的染色の結果から、上皮細胞シート、筋芽細胞シート間と筋芽細胞周囲でコラーゲンタイプ 4 の発現が認められた。またデスミンは、筋芽細胞シートにのみ発現が認められた。さらに共焦点顕微鏡による観察で両シート間のコラーゲンタイプ 4 は平面的に連続して確認された。一方、Real-time PCR 法ではデスミンの発現は 5, 7 日目で減少していた。しかしながらコラーゲンタイプ 4 は 1, 3, 5, 7 日目で有意な差を認めなかった。今回の作製方法において上皮細胞筋芽細胞積層シートの構造維持に重要な接着タンパクが両シート間で発現していることから、良好な積層シートが合成されている可能性が示唆された。