

Title	2 : 頭頸部骨化の鍵となる膜性骨が関与する「Enthesis」の組織構築機序の解明
Author(s)	北村, 旭; 山本, 将仁; 阿部, 伸一; 山下, 秀一郎
Journal	歯科学報, 122(4): 454-454
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/6038">http://hdl.handle.net/10130/6038</a>
Right	
Description	

## 口 演

### No.1 : 下咽頭・食道接合部における筋束の構成に関する組織学的検索

今井琴子<sup>1)</sup>, 山本将仁<sup>1)</sup>, 橋本圭史<sup>1)</sup>, 高木貴博<sup>1)</sup>, 山本悠太郎<sup>1)</sup>, 廣内英智<sup>1)</sup>, 松永 智<sup>1)</sup>,  
北村 啓<sup>2)</sup>, 阿部伸一<sup>1)</sup> (東歯大・解剖)<sup>1)</sup> (東歯大・組織・発生)<sup>2)</sup>

**目的:** 下咽頭と食道の接合部には、輪状軟骨から起始する輪状咽頭筋が走行するだけでなく、内面の粘膜下を下走する縦走筋が食道まで達していることをこれまで報告してきた。この食道入口部は括約筋として、胃からの逆流物を食道へ挿入させないための役割を担うが、近年誤嚥性肺炎に食道入口部の機能の加齢による衰えが関係しているとの指摘がある。これまで食道入口部を構成する筋束の構成、特に平滑筋の存在の有無などについては報告が少なく不明な点があった。そこで本研究では高齢者献体標本から摘出した食道入口部の組織塊を用い、食道入口部の筋束の構成に関する組織学的および免疫組織化学的染色による検索を行った。

**方法:** 東京歯科大学解剖学講座所蔵の解剖実習用献体22体(女性10体, 男性12体, 平均年齢85歳)から摘出した食道入口部付近の組織を観察材料とした。試料摘出後、10%ホルマリンの動脈還流によって固定し、10%エタノール溶液で3か月以上保存した。そして輪状甲状関節から15mm下位の咽頭・食道接合部を含む30mmの組織ブロックを作製した。さらに4.0°Cの0.5mol/L EDTA (pH7.5脱灰溶液, 和光, 東京)で7~14日間インキュベートし、脱灰した後、8標本を水平断面、14標本を矢状断面として、連続薄切切片を作製した。形態観察のためにH-E

染色、弾性線維観察のためにエラスチカ・ワンギーン染色、平滑筋組織の観察のために anti- $\alpha$  SMA 抗体を用い免疫組織化学的染色を施した。免疫組織化学的染色に関しては、マウスモノクローナル抗ヒト  $\alpha$ -1 平滑筋アクチン (SMA) (希釈率 1 : 100 ; Dako M85 ; Dako, Glostrup, Denmark) を使用した。本研究は、1995年のヘルシンキ宣言の規定に従って実施し、東京歯科大学倫理審査委員会の承認を得た (922)。

**結果および考察:** 形態学的観察の結果、食道の内側輪状筋と外側縦走筋の最上部が輪状咽頭筋と連続性を有し、その前外側では両筋束が結合していた。さらに内側輪状筋の一部筋束が、内喉頭筋である後輪状筋の筋膜と連続性を持つなど、咽頭・喉頭・食道の構造的な関係の一端が明らかとなった。また  $\alpha$  SMA 陽性細胞、すなわち平滑筋が食道入口部の下部に多く観察されたものの、輪状咽頭筋と接する像がみられなかった。これまでの報告から、直腸は肛門挙筋によって挟まれており、肛門挙筋の横紋筋線維は直腸の縦平滑筋と連続していることが報告されている。しかしながら、咽頭と食道においては横紋筋と平滑筋の連続性は観察されなかった。よって括約筋としての構造は肛門と比較し弱く、何らかの原因で機能低下に陥った組織が容易に胃からの逆流物を上方へ通過させてしまう可能性が考えられた。

### No.2 : 頭頸部骨化の鍵となる膜性骨が関与する「Enthesis」の組織構築機序の解明

北村 旭<sup>1)</sup>, 山本将仁<sup>2)</sup>, 阿部伸一<sup>2)</sup>, 山下秀一郎<sup>1)</sup> (東歯大・パーシャルデンチャー補綴)<sup>1)</sup>  
(東歯大・解剖)<sup>2)</sup>

**目的:** 腱-骨接合部である Enthesis は、骨格筋の収縮力を腱を介して骨へ伝達する重要な部位である。これまで我々の研究室では、脊椎動物における Enthesis の発生は、2種類の骨形成過程(軟骨内骨化、膜性骨化)に沿って区別するべきであると考え、研究を推進してきた。近年、軟骨型 Enthesis (C-Enthesis) の発生機序が、遺伝子改変マウスを用いた実験から次々と明らかにされてきた。中でも、軟骨形成に必須な SRY-Box Transcription Factor 9 (Sox 9) は、C-Enthesis の形態形成にも寄与するといわれている。しかしながら、膜性骨型 Enthesis (M-Enthesis) の発生過程において Sox 9 がどのように関与するのかわからない。そこで我々は、M-Enthesis における Sox 9 の役割について検索を行った。

**方法:** 試料として胎生 (E) 13.5~17.5日の C57BL/6J マウスを用いた。通法に従いパラフィン包埋を行い、滑走式マイクロームにて連続組織切片を作製した。関心領域を M-Enthesis (外側翼突筋腱の下顎骨への付着部) とし、C-Enthesis (上腕三頭筋腱の肘頭への付着部) と組織学的に比較・検討した。続いて時期特異的に Sox 9 を欠失したトランスジェニックマウス (*Wnt1 CreER; Sox9<sup>fl/fl</sup>*) を用い、顎関節にある M-Enthesis を採取し、組織学的に解析した。組織学的解析には、Masson-trichrome 染色、各種免疫組織化学的染色 (膜性骨: ALP, 軟

骨: Col II, 骨格筋: Desmin, Sox 9) ならびに *in situ* ハイブリダイゼーション (*Scleraxis*) を用いた。

**結果および考察:** E13.5~14.5日の顎関節部の M-Enthesis を観察すると、未分化間葉細胞が凝集していた。E15.5日になると膜性骨が顎関節の前縁に出現し、外側翼突筋の腱と接するようになった。続いてタンパクレベルならびに RNA レベルにて組織学的に解析した。E14.5日の M-Enthesis では *Scleraxis* と Sox 9 が共発現していた。しかしながら E16.5日の M-Enthesis では、*Scleraxis* は発現しているものの、Sox 9 は消失していた。一方 C-Enthesis では、E13.5~16.5日において常に *Scleraxis* と Sox 9 は発現していた。したがって、M-Enthesis と C-Enthesis を比較すると Sox 9 の発現様相が異なることが判明し、膜性骨が出現した E15.5の直後に、Enthesis 部は膜性骨型の表現型が顕著になることが示唆された。以上の結果を踏まえ、M-Enthesis では E15.5日まで Sox 9 が発現していることを明らかにするために、E15.5日から Sox 9 を欠失する *Wnt1 CreER; Sox9<sup>fl/fl</sup>* マウスを用いて M-Enthesis を観察した。その結果、C57BL/6J マウスの M-Enthesis と比較すると、E15.5日から *Wnt1 CreER; Sox9<sup>fl/fl</sup>* の M-Enthesis に形成不全がみとめられた。すなわち、E15.5日まで Sox 9 が顎関節部の M-Enthesis の組織構築に必要であることが明らかとなった。