

論文要旨

区 分	①・乙	氏名	立岡 迪子
-----	-----	----	-------



Immunohistochemical expression of Fibrillin-1 and Fibrillin-2 during tooth development

研究目的

オキシタラン線維は、弾性系線維の一つで、エラスチン沈着を伴わない微細線維の集合体と定義されており、その存在は、歯根膜と毛様体小帯で確認されている。成熟した歯根膜組織におけるオキシタラン線維については解明がすすんでいるものの、歯の発生期における役割については十分に解明されていない。本研究では、オキシタラン線維の形成機序の解明を目的として、微細線維の主要構成成分であるFibrillin-1、Fibrillin-2に着目し、歯の発生期におけるそれらの局在をin vivoにて解析した。

試料および方法

(1)歯根膜における弾性系線維の観察：生後10日齢のマウス臼歯よりパラフィン切片を作成後、レゾルシン-フクシン染色を行い、オキシタラン線維の形態を観察した。(2)歯の発生期におけるFibrillin発現の観察：胎生14.5日齢(E14.5)、出生時(NB)、生後5日(P5)、9日(P9)、12日(P12)齢のマウス臼歯を用いて、無固定・非脱灰にて凍結切片を作成。歯根形成期のサンプルは、フィルムトランスファー法(川本法)を用いた。Anti-Fibrillin-1、anti-Fibrillin-2抗体を用いて、蛍光免疫染色を行い、それぞれの局在を観察した。また、anti-cytokeratin14(CK14)抗体との二重染色を行い、歯原性上皮細胞とFibrillinの関連を調べた。(3)成熟したヒト歯根膜組織におけるFibrillin発現の観察：矯正治療のため便宜抜去となった下顎第二小臼歯の歯根を用いて、歯根形成期のマウス臼歯と同様の手技で凍結切片を作成。Anti-Fibrillin-1、anti-Fibrillin-2抗体による二重染色、また、anti-Fibrillin-2とanti-CK14抗体による二重染色を行い、成熟した歯根膜組織でのFibrillinの局在と歯原性上皮細胞との関連を調査した。

結果および考察

(1)レゾルシン-フクシン染色では、オキシタラン線維は、太く、歯根と平行に観察され、その一端は歯根セメント質に埋入されていた。また、形成中の歯根尖部には、細くて短い線維が多数観察された。(2)免疫組織学的には、Fibrillin-1の発現は、歯冠形成期(E14.5、NB)の歯胚ではみられず、歯根形成期のP9より、歯根象牙質表面から歯根膜中に向かって、網目状に観察された。またその発現は、常に、唇側の断裂したヘルトウィッヒ上皮鞘(HERS)の間から開始しており、歯根表面では、CK14陽性の上皮細胞の一部とも近接して発現がみられた。一方、Fibrillin-2は、歯冠形成期のE14.5より、歯小囊、歯乳頭、サービカルループ周囲に発現を認め、歯根形成期になると、歯根膜中に広範囲にわたり、歯根と平行に走行する線維状の発現がみられた。さらには、HERSとも近接して発現しており、CK14陽性の細胞との一致もみられた。(3)ヒト歯根膜組織において、Fibrillin-1、-2共に、歯根に平行に走行する線維状の発現がみられた。両蛋白が共発現している部分は、より太く、はっきりとした線維として観察された。また、その発現は歯根膜の中でも歯根側に位置しており、その一端はセメント質に埋入していることも確認された。Fibrillin-2は、より広範囲に発現していたが、歯槽骨側に存在するFibrillin-2単独の染色像は、線維状の形態を呈していなかった。さらに、興味深いことに、Fibrillin-2の発現は、CK14陽性の細胞群、つまり、マラッセの上皮遺残周囲にも認められた。

これらの結果から、歯の発生期においては、Fibrillin-1と-2は異なる発現パターンを示していること、また、HERSやマラッセの上皮遺残という歯原性上皮細胞周囲にも近接してFibrillinが発現していることが確認された。つまり、オキシタラン線維は、歯小囊由来の線維芽細胞によって形成されると報告されてきたが、歯原性上皮細胞もまた、歯根膜形成期においては、オキシタラン線維形成に関与している可能性が示唆された。

結論

本研究結果より、オキシタラン線維形成の初期では、Fibrillin-2が重要な役割を持っており、太い線維を作るためには、Fibrillin-1、-2両方が必要であること、また、HERSを含む一部の歯原性上皮細胞もまた、その形成に関与していることが示唆され、これらのことから、オキシタラン線維の形成機序の一端を明らかにすることができた。