

氏名(本籍地) 高橋進也(群馬県)
 学位記および番号 博士(歯学), 甲 第293号
 学位授与の日付 平成23年12月12日
 学位論文題名 「マウスの歯牙発生におけるリンパ管形成制御に関する免疫組織化学的検索」
 論文審査委員 (主査) 伊東博司教授
 (副査) 渡邊弘樹教授
 深井直実教授
 大野 敬教授

論文の内容および審査の要旨

【目的】近年、リンパ管の内皮細胞を同定するマーカーが注目され、リンパ管形成に重要な役割を果たす因子として、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)の一種であるVEGF-CやVEGF-D、さらにこれら両者の受容体であるVEGFR-3が報告されている。マウス歯牙発生における血管形成に関しては報告されているが、リンパ管の発生時期や分布状況、歯髄におけるリンパ管の存在有無については、現在まで明らかになっていない。また、象牙芽細胞層におけるリンパ管に関しては、象牙芽細胞層やワイル層での存在有無が問題になっている。さらに、ヘルトヴィッヒ上皮鞘におけるリンパ管形成の有無については、現在まで全く報告されていない。そこで、本研究では、リンパ管形成において発生学的に変動をきたすVEGF-C, D、さらにこのレセプターであるVEGFR-3を指標として、リンパ管形成の有無について検索を行うと共に、血管内皮細胞とリンパ管内皮細胞の区別を明確にする為に、血管内皮細胞に特異的であるフォンウィルブランド因子(vWF)による連続切片を用いて、免疫組織化学的検討を行った。

【材料と方法】実験動物には、C57BL/6Jマウスを用い、下顎第一大臼歯歯胚および同歯を使用した。観察期間は、胎生14, 17日齢、生後0, 3, 7, 10日齢とした。マウスを腹腔内麻酔後、4%パラホルムアルデヒドで灌流固定を行った。妊娠マウスでは胎仔を摘出し、出生後のマウスでは下顎骨を摘出した。摘出後、組織を同固定液で24時間の浸漬固定を行った。胎仔は非脱灰とし、出生

後のマウス下顎骨は10% EDTAで脱灰を行った。脱灰後、パラフィン切片を作成し、免疫組織化学的検索を行った。

【結果】VEGF-C, D, R-3の反応では、胎生14日齢で陽性を示す間葉細胞が存在し、胎生17日齢で陽性を示す内皮細胞が認められた。生後における歯髄内の反応については、0, 3, 7日齢では、陽性を示す未分化間葉細胞と内皮細胞の増加や、管腔の増大を認め、さらに、10日齢ではこれらは強陽性を示した。vWFでの内皮細胞の反応は、胎生期の内皮細胞では陰性を示した。0日齢では、VEGF-C, D, R-3とともにvWFにも陽性を示した。これは3, 7, 10日齢にも同様の反応を示した内皮細胞が存在したが、増齢とともにその数は減少した。象牙芽細胞層やヘルトヴィッヒ上皮鞘では、生後0日齢以降から、VEGF-C, D, R-3が陽性を認めた。

【考察】VEGF-C, D, R-3が陽性反応を示し、vWFが陰性を示す内皮細胞はリンパ管内皮細胞であると判断し、VEGF-C, D, R-3が陰性を示し、vWFが陽性を認めた内皮細胞は血管内皮細胞と判断した。VEGF-C, D, R-3, vWFが陽性反応を示した内皮細胞は、血管内皮細胞からリンパ管内皮細胞へと分化し移行するものと考えられた。以上より、歯髄にはリンパ管が存在することが明らかになった。象牙芽細胞層やヘルトヴィッヒ上皮鞘で、VEGF-C, D, R-3が陽性を認めたことから、リンパ管が器官形成や細胞分化にも重要な役割を果たしていると考えられた。

【結論】歯髄においてリンパ管の存在有無が議論されてきたが、本論文によりリンパ管が存在することが示唆された。

上記申請論文に対して、審査委員会は申請論文の研究内容および関連する事項について質疑応答を行った結果、いずれも申請者から適切な回答が得られた。また、語句、文章、図の一部について訂正が求められ、修正を行った。審査の結果、本研究で得られた所見は、学位授与に値すると本審査委員会は判定した。

掲載雑誌

Tissue and Cell 44(2012), 170~181