



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Immunolocalization of podoplanin, CD44 and endomucin in the odontoblastic cell layer of murine tooth germs [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Naznin, Khadiza
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13475号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74008
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Naznin_Khadiza_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏名 Naznin Khadiza

審査担当者	主査	教授	八若	保孝
	副査	教授	網塚	憲生
	副査	教授	土門	卓文
	副査	助教	長谷川	智香

学位論文題名

Immunolocalization of podoplanin, CD44 and endomucin in the odontoblastic cell layer of murine tooth germs

（マウス歯胚の象牙芽細胞層における podoplanin、CD44 および endomucin の局在について）

審査は、主査、副査が一堂に会し、論文提出者が論文内容の要旨を説明しながら、その内容について審査担当者が口頭試問を行う形で進められた。以下に論文内容と審査の要旨を述べる。

歯胚の発生ならびに象牙質形成において血管は重要な役割を担うことが推察されている。特に、歯髄（歯小囊）の血管は、象牙質形成の開始とともに象牙芽細胞層へ侵入し、さらに、象牙芽細胞下層で血管網を形成することが知られている。近年、CD31^{high}/endomucin^{high} 血管は骨芽細胞の活性化・骨形成促進に関与する可能性が報告されているが、CD31^{high}/endomucin^{high} 血管が歯胚に存在するか、また、象牙質形成過程においてどのような分布を示すかについては明らかになっていない。一方で、細胞内アクチンフィラメントの再構築に関与すると考えられている podoplanin は、リンパ・血管系の管腔形成の抑制に作用すること、また、その細胞外ドメインに CD44 結合領域を有するが、CD44 は血管内皮細胞の増殖やアポトーシス制御に作用する可能性が示唆されている。以上のことから、本研究では、歯胚の象牙質形成過程における endomucin 陽性血管の分布を podoplanin 陽性または CD44 陽性細胞の局在と比較しながら明らかにすることを目的とした。そこで、生後 1、3、5、7 日および 2、3 週齢の C57BL/6J マウスの上顎臼歯ならびにその周囲組織を摘出し、4%パラホルムアルデヒド溶液にて浸漬固定した後、EDTA 脱灰を行い、通法にてパラフィン包埋と 5μm 厚のパラフィン切片を作製した。それらの連続切片を用いて、HE 染色、endomucin、podoplanin、CD44 の免疫染色を行った。

生後 1 日齢マウスの上顎第一臼歯歯胚において、歯乳頭の細胞は象牙芽細胞に分化しておらず、また、podoplanin/CD44 陽性反応を示さなかった。このような歯乳頭において、endomucin 陽性の血管は散在的に観察された。生後 3～5 日齢の歯胚では、分化した象牙芽細胞とエナメル芽細胞ならびに象牙質とエナメル質が観察され、象牙芽細胞は podoplanin 陽性かつ CD44 陰性を示すのに対して、象牙芽細胞下層では podoplanin 陰性かつ CD44 陽性を示していた。この時期では、endomucin 陽性血管は象牙芽細胞層および象牙芽細胞下層に集積する傾向が認められた。拡大観察すると、生後 3 日齢では、CD44 陽性象牙芽細胞下層に大小さまざまな管腔径を有する endomucin 陽性血管が集積していた。生後 5 日齢では、小さな管腔を示す endomucin 陽性血管が podoplanin 陽性象牙芽細胞層に、一方、大きな管腔を有する endomucin 陽性血管が CD44 陽性象牙芽細胞下層に局在した。生後 7 日齢以降は、管腔径の小さな endomucin 陽性血管がほぼ一定の間隔をあけて象牙芽細胞層の細胞間に局在したのに対して、管腔径の大きな血管が象牙芽細胞層を裏打ちするかのように CD44 陽性象牙芽細胞下層に局在した。

以上から、歯の発生過程において、歯乳頭の細胞が象牙芽細胞に分化すると、podoplanin は象牙芽細胞層に、CD44 は象牙芽細胞下層に発現・局在すると推測された。また、podoplanin 陽性象牙芽細胞層に小さな管腔径の endomucin 陽性血管が、また、CD44 陽性象牙芽細胞下層に大きな管腔径の endomucin 陽性血管が局在する傾向が示唆された。以上より、象牙芽細胞・象牙芽細胞下層における podoplanin/CD44 は endomucin 陽性血管の局在や配列に関与する可能性が推察された。

上記の論文内容及び関連事項について、以下の項目を中心に質疑応答がなされた。

1. 象牙芽細胞層と象牙芽細胞下層に発現する endomucin 陽性血管の管腔径の違いについて
2. 象牙芽細胞・エナメル芽細胞における CD44 の発現について
3. 歯牙萌出後の歯根膜における CD44 の発現について
4. 歯胚の発生過程における VEGF の発現について
5. 象牙芽細胞分化過程における podoplanin の発現変化について
6. セメント芽細胞における podoplanin の局在について

これらの質問に対して、学位申請者から明快な説明と回答が得られ、さらに今後の研究に対する展望が示された。

学位申請者は、歯胚における endomucin 陽性血管が podoplanin 陽性象牙芽細胞層と CD44 陽性象牙芽細胞下層では、異なる管腔径や分布を示すことを形態学的に解明したことから、その内容が高く評価された。よって審査担当者全員が、学位申請者は博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。