HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Immunolocalization of podoplanin, CD44 and endomucin in the odontoblastic cell layer of murine tooth germs [an abstract of entire text]
Author(s)	Naznin, Khadiza
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
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/2115/74009
Type	doctoral thesis
File Information	Naznin_Khadiza_summary.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要約

学位論文題目

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）

博士の専攻分野名称　　博士（歯学）　　氏名　Naznin　Khadiza

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っており、象牙質形成の開始とともに血管は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報告されている（Cell Tissue Res 1992, Anat Rec 1996）。近年、骨組織特異的に CD31^{high}/ endomucin ^{high} 血管が発見されており（Nature, 2014）、CD31^{high}/endomucin ^{high} 骨特異的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推測されている。しかし、CD31^{high}/endomucin ^{high} 骨特異的血管が、骨と同じ発生由来の細胞群から構成される歯胚に存在するか否かについては明らかになっていない。一方、podoplanin は、腎糸球体細胞やリンパ管内皮細胞をはじめとしたアクチンフィラメントなどの細胞骨格を再構築する細胞に発現する膜貫通蛋白であり、リンパ・血管系の管腔形成の抑制に作用することが報告されている（Development 2009, Blood 2010）。podoplanin は、その細胞外ドメインに CD44 結合領域を有しており、CD44 は、podoplanin と同様に細胞骨格の構築に働くことが推測されているが、加えて、血管内皮細胞の増殖やアポトーシスを制御する可能性が示唆されている（J Biol Chem 2014）。これまでに、象牙芽細胞は podoplanin を発現することが報告されており、歯胚の発生過程において podoplanin/CD44 が歯胚の血管分布に及ぼす影響は大きいと推察される。

よって、本研究では、歯胚の血管が endomucin 陽性を示すか否か、歯胚の分化・発生過程において endomucin 陽性血管がどのような分布を示すか、また、endomucin 陽性血管の分布と podoplanin/CD44 の局在における経時的変化について明らかにすることを目的に、生後のマウス上顎骨第一臼歯を用いて組織化学的に検索した。

生後 1, 3, 5 日および 1, 2, 3 週齢の C57BL/6J マウスを、ペントバルビツールにて安楽死させた後、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。その後、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。これらの切片を用いて、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は、鐘状期初期を呈しており、内エナメル上皮や歯乳頭細胞はエナメル芽細胞や象牙芽細胞に分化しておらず、エナメル質や象牙質の基質形成は認められなかった。生後 3～7 日齢マウスの歯胚では、内エナメル上皮と歯乳頭細胞はエナメル芽細胞と象牙芽細胞に分化しており、歯冠部におけるエナメル質および象牙質が観察された。生後 2 週齢になると、歯冠部に引き続き歯根部が形成されており、生後 3 週齢では、歯根は未完成であるものの歯牙の萌出が観察された。

これら歯胚の全ての発生段階において、endomucin 強陽性血管の存在が確認された。生後 1 日齢歯胚において、内エナメル上皮に隣接する歯乳頭の細胞は象牙芽細胞に分化しておらず、歯乳頭の細胞は podoplanin/CD44 ともに陽性を示さなかった。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形成されており、象牙芽細胞は podoplanin 陽性

/CD44 陰性を示すのに対して、象牙芽細胞下層では podoplanin 陰性/CD44 陽性を示していた。この時期では、歯乳頭内に散在していた endomucin 陽性血管が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。拡大をあげて観察すると、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が、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。

これらの結果から、歯の発生において、歯乳頭の細胞から象牙芽細胞のへの分化とともに、podoplanin は象牙芽細胞層に、CD44 は象牙芽細胞下層に局在することが示された。歯胚においても endomucin 強陽性血管が存在すること、および、podoplanin 陽性象牙芽細胞層で小さな管腔径の血管が、また、CD44 陽性象牙芽細胞下層で大きな管腔径の血管が局在することが示唆された。以上より、象牙芽細胞・象牙芽細胞下層における podoplanin/CD44 は endomucin 陽性血管の局在性や配列に関与する可能性が推察された。