



Title	Histochemical distribution of α SMA immunoreactive cells in the periodontal ligament during tooth eruption and extrusion of first molars in murine maxillae [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	丸岡, 春日
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15000号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85301
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Haruhi_Maruoka_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 丸岡 春日

審査担当者 主査 教授 網塚 憲生
副査 教授 山本 恒之
副査 教授 佐藤 嘉晃
副査 准教授 長谷川 智香

学位論文題名

Histochemical distribution of α SMA immunoreactive cells in the periodontal ligament during tooth eruption and extrusion of first molars in murine maxillae

(マウス上顎第一臼歯の萌出および挺出時における歯根膜 α SMA 陽性細胞の組織化学的分布について)

審査は、審査担当者全員の出席の下、はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われた。内容を以下に記す。

歯根膜には、 α SMA 陽性細胞が存在し、力学的負荷に応じて歯根膜線維芽細胞から α SMA 筋線維芽細胞に形質転換する可能性が示唆されている。一方、歯小嚢に存在する未分化な α SMA 陽性細胞が、セメント芽細胞や歯根膜線維芽細胞へ分化することも報告されている。本研究では、 α SMA 陽性細胞の歯の発生段階における分布、ならびに、力学的負荷が変化した場合の局在変化を明らかにするために、各発生段階のマウス上顎第一臼歯の歯根膜、および、対合歯を抜歯し垂直方向に掛かる咬合力を軽減させた上顎第一臼歯の歯根膜における α SMA 陽性細胞の局在を組織化学的に解析した。

生後 7,10, 12, 14, 21, 49 日齢 C57BL/6J マウス上顎骨のパラフィン切片を用いて、H-E 染色および α SMA, endomucin, c-kit, PCNA の免疫組織化学、endomucin/ α SMA, c-kit/ α SMA 二重染色を行った。さらに、垂直方向の力学的負荷を減じた挺出モデルとして、生後 49 日齢 C57BL/6J マウスの下顎右側第一・第二臼歯を抜歯し、抜歯後 1, 3, 7, 14, 21, 28 日経過後の上顎臼歯をマイクロ CT 撮影した。また、同部位のパラフィン切片にて、H-E 染色、 α SMA と endomucin の免疫組織化学、および、 α SMA/PCNA 二重染色を行い、上顎第一臼歯根尖部歯根膜における PCNA 陽性細胞数と α SMA 陽性細胞面積を計測した。さらに、生後 28 日齢 Gli1-CreERT2/tdTomato マウスにタモキシフェン投与を行い、上顎骨の凍結切片を用いて、 α SMA および Phospho1 免疫組織化学を行った。

生後 7 日および 10 日齢（歯根形成前）では、歯小嚢全体に α SMA 陽性反応が認められたが、生後 12 日齢（歯根形成開始）になると、 α SMA 陽性反応は根尖部歯根膜と歯小嚢の側方に観察され、歯冠部では減弱する傾向が認められた。生後 14 日齢（歯冠萌出直前）では、

α SMA 陽性反応は主に根尖部周囲の歯根膜に局限し、その後、経時的に減少する傾向が認められた。また、 α SMA 陽性細胞は、根尖部歯根膜に集積する線維芽細胞様の組織像を示す一方、歯根膜に局在する endomucin 陽性血管を取り囲んでいなかった。未分化間葉系細胞マーカーである c-kit は、 α SMA と同様に、歯小囊に局在するほか、歯乳頭にも発現を認めた。しかし、生後 12 日齢になると、歯小囊よりも歯乳頭の象牙芽細胞層近傍に局在し、生後 14 日齢以降の歯根膜では c-kit 陽性反応は認められなかった。また、生後 28 日齢 Gli1-CreERT2/tdTomato マウスの根尖部歯根膜では、 α SMA 陽性細胞の一部が Gli1 陽性を示し、かつ、Gli1 陽性反応は Phospho1 陽性セメント芽細胞にも認められた。このことから、 α SMA 陽性細胞は、成熟した歯根膜線維芽細胞ではなく分化能を有する c-kit 陽性歯小囊に由来するものの、発生とともに歯根膜に局限し、セメント芽細胞などに分化しうる Gli1 陽性細胞として存在する可能性が推測された。

挺出モデルマウスでは、抜歯 21 日以降で上顎第一臼歯の挺出が示唆され、抜歯 3 日から 28 日経過後に至るまで、歯根膜の血管径が拡大する傾向が認められた。生後 49 日齢対照群マウスの根尖部歯根膜では、ごくわずかな α SMA 陽性反応しか認められなかったが、挺出モデルマウスでは、抜歯 1 日経過後から α SMA 陽性細胞および PCNA 陽性細胞が増加し、抜歯 3 日後に最も増加していた。その後、これらの細胞は経時的に減少した。

以上より、 α SMA 陽性細胞が c-kit 陽性歯小囊由来である可能性、 α SMA 陽性細胞は根尖部歯根膜に局在し、Gli1 を発現する細胞としてセメント芽細胞などに分化しうる可能性が推測された。また、 α SMA 陽性細胞は、力学的負荷に反応して増加する細胞であることが示唆された。

審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。以下のその項目を記す。

- (1) 挺出の組織学的メカニズムと α SMA 陽性細胞の役割について
- (2) 歯小囊に存在した「未分化間葉系細胞」の分化について
- (3) 力学的負荷が変化した際の α SMA 陽性細胞増加の特徴について
- (4) 水平方向への力学的負荷を変化させた場合の組織学的差異について
- (5) 歯槽骨における Gli1 陽性細胞由来の細胞について
- (6) α SMA 陽性細胞と無細胞セメント質との関係について

上記の質疑応答から、申請者は本研究の内容を中心とした専門分野はもとより、関連分野について十分な理解と学識を有していることが確認された。

以上、審査担当者全員は、学位申請者が博士（歯学）の学位を授与するに値するものと認めた。