



Title	人乳歯胚の蛋白アミノ基反応に関する組織化学的研究
Author(s)	出口, 康雄
Citation	大阪大学, 1967, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29456
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍) 出 口 康 雄
 学位の種類 歯 学 博 士
 学位記番号 第 1298 号
 学位授与の日付 昭和 42 年 12 月 12 日
 学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当
 学位論文名 人乳歯胚の蛋白アミノ基反応に関する組織化学的研究
 論文審査委員
 (主査) 教授 川勝 賢作
 (副査) 教授 竹田 義朗 教授 西嶋庄次郎

論文内容の要旨

歯牙や骨の硬固な組織は、有機基質の形成に始まり、これに無機塩が沈着して形造られるものである。この際、基質を構成する有機成分である蛋白質、多糖類、脂質などと、沈着する無機塩との関係については、すでに種々の手技を用いて数多くの研究がすすめられており、最近においても動物歯胚の生化学的研究により、歯牙エナメル質の形成過程において基質蛋白のアミノ酸組成が特異的に変動することが報告されている。しかしながら、このような多くの研究にも拘らず硬組織の灰化機構に関しては、今日尚充分に解明されているとは言い難い。

そこで、著者は胎生 28~30 週の人胎児乳歯歯胚を対象として、歯牙固有のエナメル質と象牙質を中心いて、蛋白アミノ基を呈色反応によって証明し、石灰化に伴う基質蛋白の変動を組織化学的に追究した。

研究には、まず、胎児の上下顎より前歯および臼歯歯胚を含む顎骨を切除し、X 線で歯胚の位置と発育程度を検索した。ついで切除した顎骨をアミノ基の保存に良好なカルノア氏液または Calcium-Formalin 液の何れかで固定し、10% 中性 EDTA で 3~7 日間脱灰したのち、通法に従いパラフィン包埋をなし、8 μ の切片標本を作製した。

検索した蛋白アミノ基とその証明法は大要次の如くで、一部原法を改良した。すなわち、遊離 amino 基の証明には安間、市川氏の Alloxan-Schiff 法を用い、Tyrosine 残基に対しては Millon 反応および Morel-Sisley の Diazo 法に Diazo Blue B を加えて発色の強化を計り、また Histidine 残基には Tetrazonium 結合法を原法の Tetrazotized Benzidine に代えて Diazo Blue B を用いて安定した染色性を得ると共に、ヨードで前処置して Phenol 核、Indol 核をヨード化し、その特異性を高めた。Tryptophan 残基に関しては Adams の DMBA(dimethylbenzaldehyd)-nitrite 反応を試み、0.5% セロイジンで切片を保護すると共に、塩酸の濃度を順次上昇させることによって

良好な結果を得、Arginine 残基に対しては坂口氏反応を改良した Pearse のオーキシン反応を用いた。さらに Tyrosine, Histidine, Tryptophan 残基の三者が同時に証明される DNFB(dinitrofluorobenzene) 反応をも行い、H 酸 (8-Amino-1-naphthol-3, 6-disulfonic acid) の結合により発色を強化する Danielli 氏法を試みた。

また、アミノ基の封鎖反応として切片を亜硝酸、ベンゾール、冰醋酸、DNFB で前処理し、反応の特異性を検討した。この他に、SH および SS 残基の証明を行い、これには標本を三塩化醋酸アルコールで固定して、著者の Nitro Blue Tetrazolium 法により反応時間を短縮し、切片のスライドからの脱落と、それに伴う破壊を防いだ。なお、硬組織に沈着したカルシュム塩は、Kossa 氏反応と Alizarin Red S 反応により検出し、一部アミノ基反応との重染色を試み基質蛋白の消長と石灰化の様相を観察した。

以上の結果から、蛋白アミノ基の諸反応は、エナメル質基質と象牙質のそれとの間に顕著な差異が認められた。すなわち蛋白アミノ基の諸反応は、エナメル質では基質形成期にあるエナメル芽細胞、Tomes 氏突起、pre-enamel に見られ、さらに発育の進んだ young-enamel において強い陽性反応が見られた。しかしえナメル質の形成が進み、明かな稜柱構造を示す transitionalenamel ではその染色性が低下していた。殊に、興味ある所見は、エナメル質基質に塩基性性状をもたらす Histidine 残基の反応で、この基は形成期エナメル芽細胞の遠心側原形質内に多数の蛋白滴として存在し、pre-enamel, young-enamel では強い反応を示すが、transitional-enamel へと石灰化が進行するに従い、著しい染色性の低下を示したことである。これらの所見は、Eastoe のアミノ酸分析による生化学的報告ともよく一致し、エナメル質基質の蛋白組成が、灰化と共に変動することを如実に物語っていた。これに対して象牙質では、基質形成期にある象牙質芽細胞とその突起には各種蛋白アミノ基の陽性反応が認められたが、象牙質芽細胞に接する pre-dentin および歯細管には反応が強く、石灰化した象牙質において再び強く反応した。他方蛋白アミノ基の個々の反応について検討すると、両者の間には可成りの相違がみられ、エナメル質では Diazo ならびに tryptophan 残基反応が象牙質に比して極めて強く、SS 基の弱い反応を除いて全般的に上皮の角化機転と類似した染色性を示し、エナメル質基質蛋白がそれとほぼ同様の組成を持つ蛋白であろうと考えられた。これに対して象牙質では、エナメル質に比して α -amino 基ならびに SH 基の反応が強く現われ、全般に歯槽骨のそれと極めて類似していた。

かく、アミノ基の諸反応は、エナメル質基質と象牙質のそれとの間に著明な差異が認められたが、この事実と脱灰後の象牙質には明らかにアミノ基反応の増強が認められるのに対して、エナメル質では殆んど変化を示さなかったという本研究における所見を考え合せると、エナメル質と象牙質の灰化機構の間には、可成りの相違があると推測され、とくにエナメル質では石灰化に伴って有機基質が脱出することが考えられた。

論文の審査結果の要旨

本研究は人発育歯胚の形成細胞ならびにエナメル質、象牙質について、その蛋白アミノ基を組織化学的に研究したものであるが、従来ほとんど行われていなかったエナメル質、象牙質の有機質の変動について有意なる知見を得たものとして価値ある業績であると認める。

よって、本研究者は歯学博士の学位を得る資格があると認める。