The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	フォスフォフォリンに対するモノクローナル抗体を用いたウシ胎仔歯胚の免疫組織化学的研究
Author(s)	中村, 修
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35654
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【5】

氏名・(本籍)	中村　修（なかむら　おさむ）
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第　7833　号
学位授与の日付	昭和62年7月28日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**フォスフォフォリンに対するモノクローナル抗体を用いたウシ胎仔歯胚の免疫組織化学的研究**
論文審査委員	(主査) 教授　鈴木不二男 (副査) 教授　岡田　宏　　助教授　高野　吉郎　　助教授　小川　裕三 講師　森崎布治郎

論文内容の要旨

象牙質に存在するタンパク質の約9割はI型コラーゲンであるが，残りの約1割を構成する所謂非コラーゲン性のタンパク質として，リンタンパク質，Gla－タンパク質，酸性糖タンパク質，プロテオグリカン等が存在し，これらの非コラーゲン性のタンパク質は，象牙前質が象牙質へ石灰化していく際に必要な因子として近年注目を集めている。その中でも1978年にDimuzioとVeisによりフォスフォフォリン（ＰＰ）と命名されたリンタンパク質は，最も含量が高く，象牙質石灰化過程に重要な役割を果たしていると考えられている。その理由として，1）ＰＰは象牙芽細胞により合成され，石灰化前線に分泌されること，2）ＰＰの全アミノ酸残基の約4割をリン酸化されたセリン残基が占め，ハイドロキシアパタイト形成のためのリン酸供与体となり得ること，3）ＰＰは容易にコラーゲンに結合し，またカルシウムイオンと結合すると沈澱する性質を有することから，ハイドロキシアパタイト結晶形成のための核となり得ること，4）象牙質形成不全症（hereditary opalescent dentin）のヒトやウシの象牙質にはＰＰが認められないこと等の知見が挙げられる。

これまで，このＰＰの物理化学的性状に関する多くの研究が報告されているが，ＰＰが象牙芽細胞で合成された後，どの様な経路で石灰化前線に到達し，さらに分泌されたＰＰが象牙質内でどの様な局在性を示すかという点については，象牙質の石灰化機構を解明する上で重要な問題であるにもかかわらず，このＰＰに対する抗血清の調製が遅れていたために不詳であった。

本研究は，これらの問題を追求するためにＰＰに対するモノクローナル抗体を調製し，ウシ胎仔歯胚の免疫組織化学的観察を試みたものである。

ウシ胎仔歯胚から粗精製したＰＰを抗原として免疫したＢＡＬＢ／Ｃマウスの脾細胞と，マウスミエ

ローマ細胞ＮＳ－１を細胞融合させ，常法に従ってモノクローナル抗体を調製した。得られた抗体は，ポリアクリルアミドゲル上で分離後メンブランにトランスブロットしたＰＰのバンドとのみ反応したことから，ＰＰに特異的な抗体であると同定された。このうち，ＰＰをalkaline phosphataseで脱リン酸化しても反応性を有する抗体を用いてＰＰの定量標準曲線を作製したところ，典型的なシグモイド曲線を示し，少なくとも0.8pmolのＰＰを定量することが可能であることがわかった。

次に，この抗体を用いて免疫組織化学的にウシ胎仔歯胚ならびに骨端切片を染色し，以下の結果を得た。

１．象牙芽細胞の細胞質，象牙前質中の象牙芽細胞突起，ならびに象牙質が染色されたが，象牙前質は染色されなかった。また，象牙質の染色の程度は石灰化前線周辺が著しく，エナメル層に向かうに従って低下する所見が得られた。

２．外套象牙質に相当する部分は染色されなかった。

３．石灰化しつつある軟骨表面に作られた新生骨基質，骨芽細胞，および骨細胞には染色性が認められたが，軟骨基質は染色されなかった。

以上のことより，ＰＰは象牙芽細胞で合成され，象牙芽細胞突起を介して石灰化前線まで運ばれた後分泌され，分泌後は徐々に分解を受けるものと考えられる。このことは，ＰＰが髄周象牙質石灰化の初期過程で重要な役割を果たしていることを強く示唆するものである。また，外套象牙質は染色されなかったことから，髄周象牙質とは異なる機構により石灰化することが示唆された。

一方，骨端軟骨周辺の骨芽細胞および骨細胞で産生されるタンパク質に，ＰＰと類似の抗原性を有するタンパク質の存在する可能性が示唆された。このことは，ＰＰが象牙質石灰化過程の重要な因子であると同様に，ＰＰに類似するリンタンパク質が骨組織の石灰化過程でも極めて重要な役割を果たしていることを示唆する興味深い知見であると考えられる。

論文の審査結果の要旨

象牙芽細胞が合成・分泌するフォスフォフォリン（ＰＰ）は象牙質の主要なリンたんぱく質であり，象牙質石灰化過程の重要な因子として注目されているが，その分泌経路や象牙質での局在性は明らかではなかった。

中村君はＰＰに対するモノクローナル抗体を調製することに世界で初めて成功し，さらにこの抗体を用いてＰＰが象牙前質を経由せず，象牙芽細胞の突起から直接，石灰化前線に分泌されること，分泌されたＰＰは石灰化前線からエナメル質に向かうにしたがって含量が減少し，外套象牙質には存在しないこと，またＰＰと抗原類似性を有するたんぱく質が骨組織にも存在することを明らかにした。

以上のように中村君の論文は，ＰＰが髄周象牙質石灰化の初期過程で重要な役割を果たすことを示したばかりではなくＰＰに類似のたんぱく質が骨の石灰化にも関与していることを示唆したものであり，硬組織石灰化機構を解明するための貴重な手掛かりを与えたものである。本論文は歯学博士の学位請求

に十分値するものと認める。