The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	萌出期のラット歯胚におけるdental follicleが破骨細胞の形成に及ぼす影響
Author(s)	黒田, 晋吾
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3169314
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【22】

氏　　名	黒　田　晋　吾（くろだ しんご）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯　学）
学　位　記　番　号	第　15350　号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学　位　論　文　名	**萌出期のラット歯胚における dental follicle が破骨細胞の形成に及ぼす影響**
論文審査委員	（主査） 教　授　高田　健治 （副査） 教　授　栗栖浩二郎　　助教授　西村　理行　　講　師　島内　英俊

論文内容の要旨

【目的】

歯の萌出期には、歯胚周囲に多数の破骨細胞が出現することが知られている。ところが、歯胚から dental follicle（DF）を除去すると、歯胚周囲での破骨細胞の出現が減少して、歯槽骨吸収が起こらず、歯の萌出が阻害される。このことから、歯胚周囲における破骨細胞の出現に、DF が何らかの影響を及ぼしていると考えられてる。

破骨細胞の形成と機能には、いくつかの因子の関与が知られている。Colony-stimulating factor－1（CSF－1）は、破骨細胞が成熟細胞へ分化するために不可欠な因子であることが報告されている。また、歯の萌出が阻害されている op／op マウスに、CSF－1を投与すると、多数の破骨細胞が骨中に出現し、歯が萌出することから、破骨細胞の形成に CSF－1が深く関わっていることが推測される。CSF－1および CSF－1 mRNA の発現が、DF 細胞に認められることから、萌出期の歯胚周囲では、DF が CSF－1をはじめとする、破骨細胞の形成を促す因子を分泌している可能性が考えられる。しかし、歯の萌出期に DF や CSF－1が、歯胚周囲の破骨細胞の形成と分化に果たす役割は、未だ不明な点が多い。

本研究の目的は、ラットの DF 培養細胞から採取した conditioned medium（CM）による破骨細胞の分化誘導能を調べ、ラット歯胚の周囲組織における CSF－1受容体の発現様相を検討することにより、歯の萌出時における歯胚周囲での破骨細胞の形成に、DF が及ぼす影響を明らかにすることである。

【方法】

［実験1］生後6－7日のSD系ラットから下顎第一臼歯の歯胚を摘出し、トリプシン処理後 DF のみを分離した。分離した DF 細胞を15%のウシ胎児血清を含む MEM で培養し、CM を採取した。一方、6－8週齢の ICR 系マウスの大腿骨と脛骨から骨髄細胞を採取し、CM を添加して、5％ウシ胎児血清を含むα－MEM で培養した。培養14日目に細胞を固定し、酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ（TRAP）染色した。

多核で大型の TRAP 陽性細胞数を光学顕微鏡下で計測し、一元配置分散分析法（ANOVA）を用いて、5％の有意水準で検定した。

［実験2］生後0、3、7、12日の SD 系ラットを、カコジル酸緩衝パラホルムアルデヒドで灌流固定し、下顎骨を摘出した。10% EDTA にて脱灰後、パラフィン包埋し、7μm の矢状断薄切切片を作成した。TRAP 染色を行い、歯胚周囲に観察される TRAP 陽性の多核細胞数を、光学顕微鏡下で計測した。また隣接する切片で、CSF－1受容

体蛋白（c－Fms）に対する抗体を用い、免疫組織染色した。c－Fmsの発現部位を観察し、陽性細胞数を計測した。

ラットに生後0日から3日まで、0.7μgのIL－1αまたは1.25IUのカルシトニンを、1日1回腹腔内投与した。上記と同様にして、歯胚周囲に観察されるTRAPとc－Fms陽性多核細胞数を計測し、ANOVAを用いて5％の有意水準で検定した。

【結果】

［実験1］培養7日目に骨髄細胞からTRAP陽性多核細胞への分化が観察されたが、培養14日目には、TRAP陽性細胞数は有意に減少していた。これに対しCMを添加して培養すると、14日目においても多数のTRAP陽性の多核細胞が出現した。さらに、TRAP陽性の多核細胞数は、対照群において6.4個／wellであるのに対し、25％CMで32.2個、50％CMで83.6個と、濃度依存性に、有意に増加した。

［実験2］歯胚周囲に多数のTRAP陽性の多核細胞が観察され、その数は生後3日で13.5個／mmと最も多かった。c－Fmsは、TRAP陽性の多核細胞の細胞膜に強く発現していた。星状網やDFなど歯胚及びその周囲組織に、c－Fmsは発現しなかった。単位長さあたりのc－Fms陽性細胞数は、生後3日のラットにおいて10.3個／mmと最も多く、その後、有意に減少した。IL－1αを投与すると、対照群に比較して、歯胚周囲のTRAP陽性の多核細胞数及びc－Fms陽性細胞数が有意に増加した。それに対し、カルシトニンを投与すると、歯胚周囲のTRAP陽性の多核細胞数及びc－Fms陽性細胞数は、いずれも有意に減少した。

【結論】

培養DF細胞由来のCMは、骨髄細胞からTRAP陽性多核細胞への分化を促進した。一方、CSF－1の受容体が、萌出中の歯胚周囲に存在するTRAP陽性の多核細胞の細胞膜に、強く発現することが明らかとなった。以上の結果より、DFが破骨細胞の形成、分化を促進する因子を分泌していること、及びそれらの因子の1つであるCSF－1が、歯胚周囲での破骨細胞の形成に、直接関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、萌出期のラット歯胚におけるdental follicleが歯胚周囲の破骨細胞の形成、分化に及ぼす影響を検討したものである。その結果、dental follicleが歯胚周囲における破骨細胞の形成、分化に影響を及ぼし、dental follicleの細胞が分泌するCSF－1が、破骨細胞の形成に直接関与している可能性が明らかとなった。本研究で得られた知見は、歯の萌出機構を解明する上で重要な手がかりを与えるものである。よって本研究は、博士（歯学）の学位を与えるに値するものと認める。