

Title	ラット下歯槽神経損傷後の切歯歯根膜ルフィーニ神経終末の再生過程におけるシュワン細胞の動態に関する研究
Author(s)	渥美, 友佳子
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/43002
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名	渥美友佳子
博士の専攻分野の名称	博士 (歯学)
学位記番号	第 15088 号
学位授与年月日	平成 12 年 2 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	ラット下歯槽神経損傷後の切歯歯根膜ルフィーニ神経終末の再生過程におけるシュワン細胞の動態に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 作田 正義 (副査) 教授 栗栖浩二郎 助教授 小川 裕三 助教授 古郷 幹彦

論文内容の要旨

【緒言】

末梢神経が損傷を受けると、損傷部位より遠方でワラー変性が起こり、その後の再生過程においては、シュワン細胞が重要な働きをすることが知られている。シュワン細胞は発生学的には神経堤に由来し、ミエリン鞘を形成するシュワン細胞 (myelinating Schwann cell) とそれ以外のシュワン細胞 (non-myelinating Schwann cell) とに分類できる。

ラット切歯舌側歯根膜に多く分布する機械受容器であるルフィーニ神経終末は、著明に分枝して肥大した軸索終末と、この軸索終末を被う non-myelinating 型に属する終末シュワン細胞とから成り立っている。このラット歯根膜のルフィーニ神経終末の形成においては、生後約 10~14 日で終末シュワン細胞の分布が完成し、約 4 週までに軸索終末の分枝が完成する。

成獣での実験的下歯槽神経損傷後のルフィーニ神経終末の再生は比較的容易におこるが、その際のシュワン細胞の動態についてはあまり知られておらず、また神経損傷が発生段階のルフィーニ神経終末に及ぼす影響についても分かっていない。

本研究では、ラット歯根膜を用いてルフィーニ神経終末の再生過程でのシュワン細胞の動態を明らかにするために、様々な程度の神経損傷および種々の発育段階における損傷後のシュワン細胞の動態を免疫組織化学的に詳細に検討した。

【材料と方法】

1. 神経損傷モデル

1) 成獣での神経損傷モデル

Sprague-Dawley 系雄性ラットの成獣 (6~7 週齢) を用い、4% 抱水クロラル (0.01 ml/g) による麻酔下で、下歯槽神経束を剖出し、以下の神経損傷を加えた。

- ① axotomy (Ax) 群：神経束を切断し、断端はそのまま静置した。

② crush (Cr) 群：神経束を鑷子にて約10秒間把持して挫滅した。

③ segmental resection (Rs 群)：下歯槽神経束を約5 mm 幅で切除した。

各群とも血管には損傷を与えず、神経損傷後切開創を縫合した。

2) 幼若動物での神経損傷モデル

同系の生後5日、14日、28日齢のラットをそれぞれ用い、成獣での術式と同様に axotomy (Ax) を行った。

2. 組織化学的検索方法

術後1～56日目に動物を灌流固定し、下顎骨を摘出した。後固定、脱灰の後、厚さ20 μm ないし40 μm の凍結切片を作製した。一次抗体として、ルフィーニ神経終末に免疫反応性が確認されている PGP9.5、S-100、p75-NGFR、GAP-43 に対する抗体を各々用い、通法に従って ABC 法にて染色し、光顕および電顕にて観察した。一部の成獣 Ax 群では、BrdU を投与し、神経束および歯根膜でのシュワン細胞の動態について、BrdU と S-100 の二重染色を施した。

【結果】

正常な舌側歯根膜のルフィーニ神経終末は、軸索のマーカーである PGP9.5 とシュワン細胞のマーカーである S-100 の免疫反応を検討することによって、alveolus-related part (ARP) にのみみられ、tooth-related part (TRP) にはないことが確認された。

成獣では、Ax 後1日目で軸索の PGP9.5 陽性反応はほぼ消失し、3日目より S-100 陽性のルフィーニ神経終末の形態にも変化が現れた。5日目には本来神経成分のみられなかった TRP に S-100 陽性細胞が出現するとともに、ARP の終末シュワン細胞は減少した。TRP の S-100 陽性細胞は長い突起をもち、その細胞内にコラーゲン様の構造物を認めた。これらの細胞は p75-NGFR、GAP-43 陽性でもあることから終末シュワン細胞由来と考えられた。この時期に歯根膜の S-100 陽性細胞は BrdU 陰性であった。7日目より再生軸索の歯根膜への進入がみられるが、シュワン細胞は TRP に遊走しており、14日目には ARP と TRP の境界部に軸索が伸長し、シュワン細胞は切歯の長軸方向に連続していた。術後28日目ごろには再生した軸索が再び分枝した終末を作り、終末シュワン細胞を伴ったルフィーニ神経終末が再生された。遊走するシュワン細胞は経日的に減少し、その分布は最終的に正常な歯根膜と同様になった。

Cr 群では軸索再生までの期間が Ax 群と比べて短く、それに合わせてシュワン細胞の遊走している期間も短縮された。より損傷程度の大きい Rs 群では、Ax 群より遅れて歯根膜に再生軸索が伸びるが、56日目でも再生されたルフィーニ神経終末の数は少なく、またシュワン細胞は損傷初期には Ax 群と同様な遊走を認めたが、術後42日目以降には遊走しているシュワン細胞はみられなくなった。

生後14日齢、28日齢の幼若ラットでは、神経切断によるシュワン細胞の動態およびルフィーニ神経終末の再生は成獣とほぼ同様な経過を示した。生後5日齢ラットでは、Ax によるシュワン細胞の遊走は少なく、最終的に分布密度は少ないものの、ルフィーニ神経終末が完成された。

【結論および考察】

ラット切歯舌側歯根膜では、神経損傷後のルフィーニ神経終末の変性と再生の過程でシュワン細胞が、本来神経要素のない歯根膜 TRP へ遊走した。この細胞はその免疫組織化学的特性および微細構造の特徴より終末シュワン細胞由来であることが示唆された。また、シュワン細胞の遊走は軸索再生と関連するが、その遊走状態での生存期間には限界がある可能性が示唆された。さらに、ルフィーニ神経終末完成途上の幼若動物でも、神経損傷後の再生過程ではシュワン細胞は成獣と同様な動態がみられ、再生軸索がルフィーニ神経終末を形成できることが示された。

論文審査の結果の要旨

本研究はラット歯根膜を用いて、ルフィーニ神経終末の再生過程でのシュワン細胞の動態を明らかにすることを目的に行われたものである。即ち、様々な程度の下歯槽神経損傷および種々の発育段階における損傷後におけるシュワン細胞の動態を免疫組織化学的に検討した。

その結果、ラット切歯舌側歯根膜では、神経損傷後のルフィーニ神経終末の変性と再生の過程で終末シュワン細胞が、本来神経要素のない歯根膜へ遊走した。また、この細胞の遊走は軸索再生と関連するが、その遊走状態での生存期間には限界がある可能性が示唆された。さらに、ルフィーニ神経終末完成途上の幼若動物でも、神経損傷後の再生過程ではシュワン細胞は成獣と同様な動態がみられ、再生軸索がルフィーニ神経終末を形成できることが示された。

以上の研究結果は、神経再生過程の形態学的機構について重要な知見を与えるものであり、博士（歯学）の学位授与に値するものであると認める。