

ふりがな たかもり やすひこ  
氏 名 高 森 泰 彦  
学 位 博 士 (歯学)  
学 位 記 番 号 新大院博 (歯) 第 1 3 3 号  
学位授与の日付 平成 2 0 年 3 月 2 4 日  
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当  
博 士 論 文 名

Capacity of dental pulp differentiation in mouse molars as demonstrated by  
allogenic tooth transplantation  
(マウス臼歯他家移植により明らかにした歯髄分化能)

論文審査委員 主査 教授 大 島 勇 人  
副査 教授 齊 藤 力  
教授 高 木 律 男

博士論文の要旨

【目的】

歯髄は硬組織である象牙質に囲まれた神経堤由来の未石灰化組織であり、根尖孔で歯周組織と交通している。象牙質・歯髄複合体は歯の損傷に対して修復能を有しているが、歯の再植後には歯髄内に象牙質に加え骨組織が形成されることが知られている。これまで我々は、歯冠部を舌下部に移植する自家移植実験系を用いて歯髄の分化能について検索し、歯髄には象牙芽細胞および骨芽細胞への分化能をもつ複数の細胞群が存在する可能性を示した。しかし、移植歯周囲のホストの組織が硬組織形成に関与する可能性も否定できなかった。今回我々は、歯冠部を舌下部に移植する他家移植実験系を確立し、歯髄の骨組織形成能を検索すると共に、ROSA26 トランスジェニックマウスを用いた歯の他家移植実験系により硬組織形成細胞の由来を検索した。

【方法】

3 週齢マウス上顎第一臼歯を深麻酔下で抜去後、歯根部および髄床底を除去し歯冠部のみを舌下部に他家移植した。術後 1、3、5、7、14 日後にブロモデオキシウリジン (BrdU) を腹腔内投与し分裂細胞をラベルし、2 時間後にアルデヒド系固定液で灌流固定、EDTA 脱灰後、舌と共に移植歯のパラフィン切片を作製した。引き続き抗 BrdU 抗体、抗ネスチン抗体を用いた免疫染色、酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ (TRAP) 染色を施し顕微鏡で観察した。さらに、*Lac Z*(+)と *Lac Z*(-)の ROSA26 マウス間で他家移植実験を行った。

【結果】

他家移植実験に拘わらず免疫拒絶反応は起こらず、移植後 1～3 日後には歯髄内に炎症細胞浸潤が観察され、5 日後には炎症反応が消退し既存の象牙質に連続してネスチン陽性象牙芽細胞様細胞の配列が見られ、7 日後には象牙細管をもつ象牙質形成が確認された。14 日後になると、象牙質形成に加え、象牙質から離れた部位で骨組織形成が観察されたが、象牙質形成が観察されない部位では、歯髄・象牙質

界面に TRAP 陽性破骨細胞系細胞が出現し、細胞突起を象牙細管内に侵入させていた。既存の象牙質に連続して骨組織形成が惹起される場合もあり、骨組織形成部位には TRAP 陽性反応が観察された。また、歯髄内細胞増殖活性は、術後3日に最大になりその後優位に減少した。一方、*LacZ* トランスジェニック ROSA26 マウスを用いた歯の他家移植実験においては、歯髄内にはドナー由来の象牙芽細胞、ならびにドナーおよびホスト由来の骨芽細胞ならびに間葉細胞が存在し、破骨細胞系細胞も *LacZ* 陽性を示した。

#### 【考察】

本実験において、歯冠部の舌下部への他家移植実験系を確立した。本モデルは、移植前に髄床底と歯根を除去しており歯周組織の関与を除いているので、歯髄の分化能を検索するのに優れた実験である。また、本他家移植においては免疫拒絶反応が惹起されず、自家移植実験と同様な歯髄修復過程が観察された。すなわち、移植1日後には歯髄内に炎症反応が起こり、3日後に歯髄内増殖活性が更新し、5～7日後に象牙芽細胞分化と象牙質形成が起こり、14日後には象牙質に加え骨組織形成が惹起された。

歯髄の分化能に関して、歯の損傷後に歯髄間葉細胞が象牙芽細胞様細胞に分化し象牙質形成が起こることは良く知られた事実であるが、歯髄組織の移植後に骨芽細胞の分化が誘導されることが報告されている。従って、歯髄には象牙芽細胞系細胞に加え、骨芽細胞系細胞が存在することが示唆されてきた。本実験においては、象牙質形成は常に既存の象牙質に連続して形成されたことにより、象牙質の scaffold (足場) の存在が重要であると思われた。実際、象牙質に存在するシグナル分子が象牙芽細胞分化に関与することが推測されている。また、本実験において、TRAP 陽性破骨細胞系細胞と骨組織形成との関与も確認された。

これまでも歯冠部を舌下部に移植する自家移植実験系を用いて、歯髄には象牙芽細胞と骨芽細胞への分化能をもつ複数の細胞群が存在する可能性を示したが、移植床周囲組織の関与を否定できなかった。他家移植実験系と ROSA26 トランスジェニックマウスを組み合わせることによって、歯髄内硬組織形成細胞の由来を特定することができた。すなわち、象牙芽細胞へ分化する細胞群はドナー由来であり、骨組織形成にはドナーおよびホスト由来の骨芽細胞が関与することが明らかとなった。最近の研究で GFP ラットを用いた歯の移植実験においても、歯髄内骨組織形成細胞がホストとドナー双方に由来することが示されたが、当該実験は歯周組織を含んだ移植実験系のため歯髄の分化能については明らかにされていなかった。しかしながら、野生型マウス歯周組織の TRAP 陽性破骨細胞が *LacZ* 陽性を示したことから、破骨細胞系細胞の由来は特定できなかった。

以上より、象牙芽細胞系細胞と骨芽細胞系細胞が歯髄に存在し、歯の移植後の歯髄再生過程においては、ホストとドナーの双方の細胞が骨組織形成に関与することが明らかになった。歯髄の生物学的特性の理解は、将来の歯髄再生療法に有益な情報を提供することになるであろう。

## 審査結果の要旨

象牙質・歯髄複合体は歯の損傷に対して修復能を有しているが、歯の再植後には歯髄内に象牙質に加え骨組織が形成されることが知られている。歯冠部を舌下部に移植する自家移植実験系を用いて歯髄の分化能について検索すると、歯髄には象牙芽細胞および骨芽細胞への分化能をもつ複数の細胞群が存在する可能性が示されている。しかしながら、移植歯周囲のホストの組織が硬組織形成に関与する可能性も否定できないことから、本研究では、歯冠部を舌下部に移植する他家移植実験系を確立し、歯髄の骨組織形成能を検索すると共に、ROSA26 トランスジェニックマウスを用いた歯の他家移植実験系により硬組織形成細胞の由来を検索している。

本実験において、歯冠部の舌下部への他家移植実験系が確立されている。本モデルは、移植前に髄床底と歯根を除去しており歯周組織の関与を除いているので、歯髄の分化能を検索するのに優れた実験系であると言える。また、本他家移植においては免疫拒絶反応が惹起されず、自家移植実験と同様な歯髄修復過程が観察され、14 日後には象牙質に加え骨組織形成が惹起されることが明らかになっている。

本研究の特筆すべき点は、他家移植実験系と ROSA26 トランスジェニックマウスを組み合わせることによって、歯髄内硬組織形成細胞の由来を特定することができた点である。すなわち、象牙芽細胞へ分化する細胞群はドナー由来であり、骨組織形成にはドナーおよびホスト由来の骨芽細胞が関与することが明らかとなった。しかしながら、本研究では破骨細胞系細胞の由来は特定できておらず、ドナー及びホスト由来の骨芽細胞系細胞の分化メカニズムについては明らかになっていない。歯の移植後の歯髄内における骨芽細胞の分化メカニズムに関しては、更なる解析が期待される。

以上より、本研究は、マウスを用いて歯髄再生を解明するための優れた歯の他家移植実験系を確立し、ROSA26 トランスジェニックマウスを用いた歯の他家移植実験系により硬組織形成細胞の由来を免疫組織化学的・酵素組織化学的に解明しており、学位論文としての価値を認める。