

第141回 岐阜歯科学会例会

と き 平成13年12月1日(土) 午後1時より
 ところ 朝日大学1号館3階 第1大講義室

1. マウス下顎関節頭および歯牙の発生における形態形成と細胞増殖の関係

後藤 達也(朝日大・歯・大学院・歯科矯正)

<目的>

歯科矯正領域において顎の発生を知ることは必要不可欠であり、これには主に顎骨、歯牙、顎関節頭の要素が含まれる。発生における形態形成は細胞増殖と関連するが、一般に細胞周期の Retinoblastoma(RB)経路においてcyclin はG1期からS期へのリン酸化促進因子であり、cyclin dependent kinase(CDK)や proliferating cell nuclear antigen(PCNA)と複合体を形成し、その活性を高める一方で、p27は cyclin/CDK複合体に結合し、G1期阻害を示すといわれている。この点をマウス下顎関節頭ならびに歯牙の発生におけるPCNA、cyclin D1およびCDK inhibitor の p27について免疫組織学的ならびに免疫沈降法でタンパクの結合状態から細胞増殖と顎関節頭および歯牙の形態形成との関連性を考察した。

<方法>

胎生14.5日と生後2日のマウス頭部パラフィン切片を抗PCNA、抗 cyclin D1および抗p27マウスモノクローナル抗体で免疫染色を行った。また生後2日の頭部ホモジネートを抗PCNAまたは抗 cyclin D1抗体で免疫沈降させ、immunoblotでこれらの抗原の発現と相互結合状態を検索した。

<結果>

1) 免疫染色

(1) 胎生14.5日の顎関節頭部

軟骨細胞や軟骨内骨化の骨芽細胞にPCNA陽性を示し、表層の関節円板に相当する未分化な細胞には陰性で、cyclin D1は全ての細胞に発現が弱く、p27は骨化した骨芽細胞にのみ強陽性を示した。

(2) 生後2日の顎関節頭部

PCNAは表層を除く全ての細胞に強陽性を示し、cyclin D1は一部の肥大した軟骨細胞や骨化した骨芽細胞にのみ陽性で、p27はPCNAやcyclin D1陽性細胞よりも少なく限定された。

(3) 胎生14.5日の臼歯部歯胚

PCNAはエナメル器両端の内エナメル上皮や歯原性間葉に陽性を示し、一方cyclin D1はPCNAと一致したがその程度は弱くp27は陰性であった。

(4) 生後2日の臼歯部歯胚

複雑な形態を示した将来の咬頭間やヘルトビッチ上皮鞘にPCNAは強陽性を示し、cyclin D1はPCNA

と一致したがその程度は弱く、逆にp27は咬頭間で強陽性でヘルトビッチ上皮鞘では陰性であった。

2) 免疫沈降によるimmunoblot

それぞれの抗体で免疫沈降させた転写膜に互いに特異な陽性バンドを検出したが、p27は検出されなかった。これは頭部ホモジネートに対するimmunoblotの結果とも一致した。

<考察と結論>

生後2日の顎関節頭ならびに歯胚の免疫染色で、PCNAとcyclin D1の共発現細胞は一樣に細胞周期が進行し、活発に増殖しながら形態形成を行うことが窺えた。また両タンパクは免疫沈降によっても結合していることから、その細胞増殖にRB系が関与していることが示唆された。一方、p27はPCNAとcyclin D1の共発現細胞のうち、さらに限定された一部の細胞に陽性であり、免疫沈降ではPCNAとcyclin D1のどちらにも結合していなかったことから、本タンパクは少なくともcyclin D1/CDK/PCNA複合体には結合しないことが明らかになった。この現象によって展開される機構は不明であるが、別のcyclin/CDKに結合してこれを阻害し、この細胞では増殖よりもむしろ細胞分化に働いている可能性も示唆された。

以上のことから、マウスの顎関節頭における形態形成は常に増殖して類球形状を示しながら進行性であること、一方歯牙においては複雑な形態形成の際にこれらのタンパクの時空間的な発現と作用が関連することが示唆された。(学位請求論文)

2. ラット顎下腺DMBA誘発癌におけるH-rasの変異

水谷 豪(朝日大・歯・大学院・顎顔面外科)

<目的>

ラット顎下腺9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene(DMBA)誘発癌におけるH-rasの変異について検討した。

<方法>

動物は8週齢SD系雄ラット100匹を使用した。発癌は顎下部皮膚を切開後、腺体内に小窩を形成し2% DMBAオリブ油溶液含有歯科用スポンジを埋入した。また、オリブ油のみを含んだものを対照群とした。組織の約1/2を10%ホルマリンにて試料を固定後、通常に従い病理組織学的検索を行い、残りの組織にてH-rasの変異を検討するためにmRNAを抽出し、RT-PCR後、SSCPにて多型解析した。変異バンドより一本