

学 位 論 文 題 名

破歯細胞に関する微細形態学的研究：

ヒトにおける核数の分布について

学位論文内容の要旨

緒言

骨や歯を吸収する細胞は、多核の巨細胞であり、破骨細胞・破歯細胞と呼ばれている。破骨細胞の形態学的な特徴は、これまでに多くの研究者によって明らかにされてきており、その特徴として、多核の巨細胞であることと、透過型電子顕微鏡によって骨吸収部位に観察される波状縁 ruffled border と呼ばれる特殊構造の存在が知られている。また、破歯細胞の形態学的特徴も破骨細胞と同様、多くの研究者によって明らかにされてきており、その特徴として、多核の巨細胞、波状縁の存在が報告されている。

近年、透過型電子顕微鏡的に波状縁をもつ単核の破骨細胞・破歯細胞の存在が報告された。しかしながら、この報告は1例報告であり、生体で機能している破骨細胞・破歯細胞の中で単核の細胞がどの程度の比率で存在しているかはわかっていない。また、これまで多核の細胞とされてきた破骨細胞や破歯細胞において、単核を含めたその核数の分布に関する報告はほとんどない。

本研究では、単核を含めたヒト破歯細胞の生体における核数の分布を検索した。

材料と方法

観察試料として局所麻酔下にて抜去された生理的交換期に達した乳前歯10本、乳臼歯10本を用いた。乳歯は抜去後、直ちに、固定・脱灰後、保存液中に浸漬し、破歯細胞の存在領域を確認するために酒石酸耐性酸性フォスファターゼ(以下TRAP)活性反応を行った。TRAP活性反応後、実体顕微鏡を用いて乳歯を観察した。観察の結果、TRAP陽性反応が見られる試料を、その後の観察試料として用いた。また、検索者の作意によって偏った標本抽出を行わないように、TRAP

P陽性反応を示していた乳前歯10本、乳臼歯10本の試料から、無作為に乳前歯3本、乳臼歯3本を抽出し、その後の試料とした。

試料は続いて1%四酸化オスミウムにより後固定の後、4%酢酸ウランを用いてブロック染色を行い、脱水、置換、エポンに包埋した。試料は、ウルトラミクロトームを用いて、連続準超薄切片を作製した。薄切は、歯根吸収面に対しほぼ垂直の方向で行い、また一部の試料においては、準超薄切と超薄切の交互の連続薄切を行った。

準超薄切片はmethylene blue - azure IIを用いて染色し、光学顕微鏡を用いて観察を行い、超薄切片は酢酸ウランとクエン酸鉛の二重染色を施し透過型電子顕微鏡を用いて観察した。

破歯細胞の核数の計測に際しては、得られた連続準超薄切片の光学顕微鏡像を写真撮影し、切片上で歯根吸収面に吸収窩を形成している細胞を選択し、次にその細胞体を含むすべての連続切片を注意深く観察し、その核数を計測した。このような過程を、179個の細胞について行った。

観察した細胞のいくつかは、その細胞外形、核、歯根吸収面を連続準超薄切片の光学顕微鏡像からトレースし、デジタイザーを用いてコンピューターに入力して、3次元画像解析システムで細胞外形、核、歯根吸収面の立体復構を行った。

核の数を計測した結果を基に細胞1個あたりの核数について、乳前歯・乳臼歯・および全体におけるその度数分布表、累積度数分布表を作製し、平均値、最頻値、中央値、細胞全体に占める割合を求めた。

結果

実体顕微鏡下でTRAP陽性反応を示した細胞の準超薄切片像を観察すると、これらの細胞の大部分は、1切片上においても通常多核の細胞として現れ、そのほとんどが歯質上に吸収窩を形成していた。これらの細胞は、吸収窩に面して刷子縁を有していた。本研究では、このような多核の細胞の中に、吸収窩を形成していた単核の細胞がいくつか観察された。この細胞は連続切片の観察によって、1個の核を持つ細胞であることが認められた。このような単核の細胞は歯質上に吸収窩を形成しており、細胞は吸収窩に面して刷子縁を形成していた。また、吸収窩を形成していない細胞もいくつか観察された。歯質上に吸収窩を形成していない細胞は、今回の計測には含めなかった。

乳歯全体において観察した破歯細胞の細胞1個あたりの核数の平均値は5.4、最頻値は3、中央値は5であった。破歯細胞は乳前歯、乳臼歯を問わず、3～4個の核数を持つ細胞が優位を示していた。10個以下の核数を持つ細胞は全体の92.7%を占めていた。また、破歯細胞の60.9%が核数が5個以下の細胞であった。単核の破歯細胞は全体の3.4%の割合で存在していた。

考察

本研究では、歯根吸収面上に吸収窩を形成しているヒト破歯細胞の核数の分布を、連続準超薄切片を用いて、初めて明らかにした。本研究の結果、単核の細胞が破歯細胞全体の約3%の割合で存在していた。したがって、Domon et al. (1994)の報告による単核の破歯細胞は、特殊な例ではなくヒト乳歯歯根吸収面に、少数ではあるが、実際に存在する細胞であることが明らかにされた。本研究では、これら単核の破歯細胞が、乳歯歯根吸収に直接関与していることを明らかにした。

本研究で歯種差による、破歯細胞の核数の分布について統計学的な有意差は認められなかった。今回の結果から、乳前歯と乳臼歯のどの歯をとっても、破歯細胞の核数の分布について理想的な標本抽出できる可能性が示唆された。

一般的には、破歯細胞・破骨細胞は、数十個から時には100個を越すほどの多数の核をもつ巨大細胞である、と記載されている。本研究の結果から、実際に乳歯歯根吸収を行っている破歯細胞の大部分が2～4核の比較的少数の核を有する細胞であり、数十あるいは数百という核を有する巨大細胞はほとんど存在しないか、あるいは存在してもかなり特殊な例であることが明らかになった。

結論

ヒト破歯細胞の大部分が2～4個の核を有する細胞であり、また、単核の破歯細胞も乳歯歯根吸収に直接関与していることが理解された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 口 春 久

副 査 教 授 脇 田 稔

副 査 教 授 雨 宮 璋

学 位 論 文 題 名

破歯細胞に関する微細形態学的研究：

ヒトにおける核数の分布について

骨や歯を吸収する細胞は、多核の巨細胞であり、破骨細胞・破歯細胞と呼ばれている。これらの細胞の形態学的な特徴は、これまでに多くの研究者によって明らかにされてきており、多核の巨細胞であることと、透過型電子顕微鏡によって吸収部位に観察される波状縁 ruffled border と呼ばれる特殊構造の存在が知られている。近年、透過型電子顕微鏡的に波状縁をもつ単核の破骨細胞・破歯細胞の存在が報告された。しかしながら、この報告は1例報告であり、生体で機能している破骨細胞・破歯細胞の中で単核の細胞がどの程度の比率で存在しているかは解明されていない。また、これまで多核の細胞とされてきた破骨細胞や破歯細胞において、単核を含めたその核数の分布に関する報告はほとんどない。

本研究は、単核を含めたヒト破歯細胞の生体における核数の分布を検索する目的で行ったものである。試料として生理的交換期に達した乳歯を用いた。乳歯は抜去後、直ちに、固定、脱灰し、破歯細胞の存在領域を確認するために酒石酸耐性酸性フォスファターゼ (TRAP) 活性反応を行い、陽性反応が見られる試料をその後の試料とした。続いて1%四酸化オスミウムにより後固定の後、4%酢酸ウランを用いてブロック染色を行い、脱水、置換、エポン包埋し、連続準超薄切片を作製した。薄切は、歯根吸収面に対しほぼ垂直の方向で行い、また一部の試料においては、準超薄切と超薄切の交互の連続薄切を行った。準超薄切片は methylene blue - azure II を用いて染色し、光学顕微鏡を用いて観察を行い、超薄切片は酢酸ウランとクエン酸鉛の二重染色を施し透過型電子顕微鏡を用いて観察した。

破歯細胞の核数の計測に際しては、得られた連続準超薄切片の光学顕微鏡像を写真撮影し、切片上で歯根吸収面に吸収窩を形成している細胞を選択し、次にその細胞体を含むすべての連続切片を注意深く観察し、その核数を計測した。このような過程を、179個の細胞について行った。

核の数を計測した結果を基に細胞1個あたりの核数について、度数分布表、累積度数分布表を作製し、平均値、最頻値、中央値、細胞全体に占める割合を求めた。乳歯全体において観察した破歯細胞の細胞1個あたりの核数の平均値は5.4、最頻値は3、中央値は5であった。破歯細胞は乳前歯、乳臼歯を問わず、3～4個の核数を持つ細胞が優位を示していた。10個以下の核数を持つ細胞は全体の92.7%を占めていた。また、破歯細胞の60.9%が核数が5個以下の細胞であった。単核の破歯細胞は全体の3.4%の割合で存在していた。

本研究において、吸収窩を形成しているヒト破歯細胞の単核を含めた核数の分布を、連続準超薄切片を用いて、初めて明らかにした。本研究の結果、単核の細胞が破歯細胞全体の約3%の割合で存在していた。したがって、単核の破歯細胞は、特殊な例ではなくヒト乳歯歯根吸収面に、少数ではあるが、実際に存在する細胞であり、これら単核の破歯細胞が、乳歯歯根吸収に直接関与していることを明らかにした。また一般的には、破歯細胞・破骨細胞は、数十個から時には100個を越すほどの多数の核をもつ巨大細胞である、と記載されているが、本研究の結果から、実際に乳歯歯根吸収を行っている破歯細胞の大部分が2～4核の比較的少数の核を有する細胞であり、数十あるいは数百という核を有する巨大細胞はほとんど存在しないか、あるいは存在してもかなり特殊なケースであることが明らかになった。

学位申請者は、主査および副査と個別に会し、本論文に対する審査が口頭試問により行われた。各審査担当者は学位申請者に対し、本論文の内容ならびに関連事項について詳しく質問を行った。これらの試問に関して、それぞれ適切、かつ明快な回答が得られた。また本研究の意義・発展性について、破歯細胞・破骨細胞が多核化する機構や吸収機構の解明に、今回の実験方法ならびに結果が貴重な情報を提供するものであり、吸収基質の違い、正常と異常との比較などの発展性を示唆すると説明がなされた。以上より本学位申請者は博士(歯学)の学位授与に値するものと認められた。