

学 位 研 究 紹 介

マウス臼歯の根尖側セメント質の最表層には無細胞外部線維性セメント質が常に存在する

Acellular extrinsic fiber cementum is invariably present in the superficial layer of apical cementum in mouse molar

新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯科矯正学分野

岩間 基

Division of Orthodontics, Niigata University Graduate school of
Medical and Dental Sciences

Hajime Iwama

【背景および目的】

矯正学的な歯の移動において歯周組織がその機能と形態を維持することは極めて重要であるが、歯根表面を被覆するセメント質の詳細についての知見は不十分である。歯根膜を介して歯を歯槽骨に結合することにより歯の支持に寄与するセメント質は、セメント細胞の有無と内在する線維の性質という2つの要素により、無細胞外部線維性セメント質(AEFC: acellular extrinsic fiber cementum)、有細胞固有線維性セメント質(CIFC: cellular intrinsic fiber cementum)、有細胞混合重層性セメント質(CMSC: cellular mixed stratified cementum)等に分類される。AEFCによって被覆されるマウス臼歯の歯頸側セメント質は外部線維を有することから歯の支持に寄与するが、AEFCとCIFCによる層状構造から成るCMSCによって被覆される根尖側セメント質が歯の支持に寄与しているか否かについて一定の見解は得られていない。さらに根尖側のセメント質におけるCMSCの形成は、空間的および経時的な予測が困難であることから、その線維の特性および機能的意義は未だに解明されていない。そこで本研究では、加齢に伴い肥厚するマウス臼歯のセメント質をモデルとし、歯の支持に寄与する外部線維に着目してセメント質の形態学的特徴とその機能的意義を明らかにすることを目的とした。

【方 法】

野生型マウス(C57BL/6J, 雄性, 2, 6, 12か月齢)を用いて、脱灰パラフィン包埋組織標本作製した。観

察領域は、上顎第一臼歯遠心根の近心側における歯頸側と根尖側とし、H&E染色による組織学的観察と、各種マーカー(Dmp1, Osteopontin, β -catenin, Sclerostin)の免疫染色法による検出を行った。コラーゲン線維の検出には、Picrosirius Red染色の偏光観察と、多光子顕微鏡を用いたSecond Harmonic Generation(SHG)による検出を行った。SHGから得られた画像をもとにCT-FIRE(University of Wisconsin-Madison)を用いてコラーゲン線維の定量解析を行った。

【結果および考察】

野生型マウスの上顎第一臼歯遠心根の近心側において、歯頸側ではいずれの月齢においても無細胞セメント質が歯根表面を被覆し、セメント質の厚さは加齢に伴い増加した。一方、根尖側においては、有細胞セメント質が歯根表面を被覆し、セメント質の面積は加齢に伴い増加したが、歯頸側の無細胞セメント質に見られるLamellar構造は観察されなかった。これらの肥厚したセメント質の表層は、歯頸側から根尖側に至るまでの連続性を有していた(図1)。

セメント質の主要な細胞外マトリックスであるOsteopontinは、歯頸側ではセメント質の歯根膜側に分布する傾向を認めたのに対し、根尖側では歯根表層に分布し、セメント質表層に対して垂直に埋め込まれている外部性線維様の構造に沿って強いシグナルを示した。(図2-A)

多光子顕微鏡を用いたSHG画像(図3-A)においては、歯頸側のAEFCにはセメント質表面に対して斜めに走行する緻密な線維構造の存在が見られた。また、根尖側に

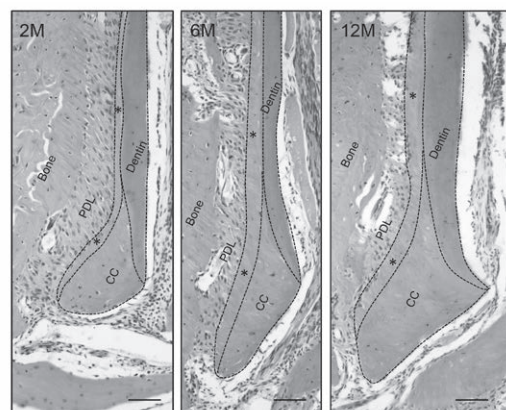


図1 マウス臼歯における加齢に伴うセメント質の形態的变化
歯頸側から根尖側にかけて AEFC は連続性を有する。*: 外部線維に富むセメント質, CC: 有細胞セメント質, スケールバー: 50 μ m

おいては表層と内層の間で線維の配向に明瞭な境界があり、表層の線維はセメント質表面に対して斜めに走行していたが、内層の線維は外部線維に対してほぼ直交するように走行していた。さらに、外部性線維を有する根尖側セメント質の表層は無細胞性であり、内層は有細胞性であった。これらの結果から、マウス臼歯の根尖側セメント質は表層の AEFC と内層の CIFIC に区分されることが示唆された。CT-FIRE を用いたコラーゲン線維の定量解析では、セメント質の各領域における線維の配向を角度 10° 毎のヒストグラムで示した (図3-B, C, D)。その結果、各領域における角度のヒストグラムは単峰性あるいは二峰性を示し、その特徴は加齢に伴い顕著になる傾向を示した。

さらに加齢に伴うセメント質の形成における Wnt/ β -catenin シグナルの影響を明らかにするために Wnt/ β -catenin シグナルに必須のメディエーターである β -catenin 陽性細胞を免疫染色により解析した (図2-B)。その結果、 β -catenin 陽性細胞は歯頸側ではセメント質表面の歯根膜に分布したのに対し、根尖側では根尖部付近に局在した。また歯頸側では加齢による陽性細胞の減少を認めた。さらに、Wnt/ β -catenin シグナル伝達の負のメディエーターである Sclerostin 陽性細胞の分布を解析したところ、歯頸側では歯根膜細胞を含めて陽性細胞は検出されず、根尖側においては6か月齢でセメント質内層のセメント細胞で検出されるようになり、12か月齢でそのシグナルは増強した。

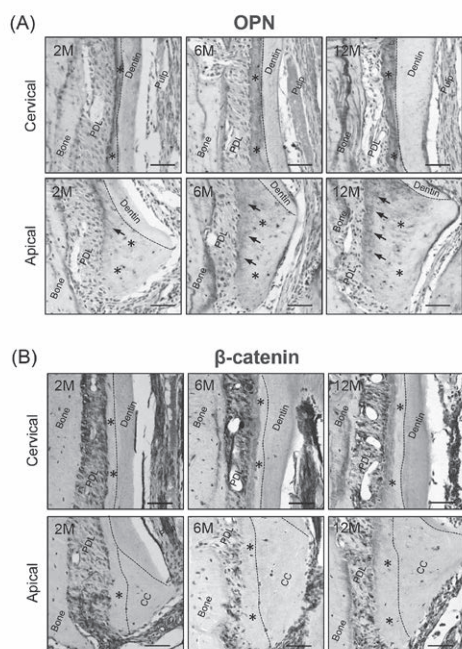


図2 Osteopontin (OPN) および β -catenin の免疫染色像
(A) Osteopontin は歯頸側ではセメント質の歯根膜側に分布し、根尖側ではセメント質表層の外部線維様の構造に強いシグナル (→) を認めた。*: セメント質
(B) β -catenin の局在は歯頸側と根尖側で異なる。*: AEFC, CC: 有細胞セメント質, スケールバー: $50\mu\text{m}$

【結 論】

本研究により、マウスの臼歯根尖側セメント質の表層には常に AEFC が存在することが初めて明らかとなった。根尖側と歯頸側の AEFC には連続性があるだけではなく、同等の線維特性を示していたが、 β -catenin の局在は異なっていた。また、根尖側 CIFIC には Lamellar 構造が存在せず、一定の速度で根尖方向に成長していることが示唆された。これらの結果は、過去の研究では考慮されていなかった根尖側セメント質の表層に存在する AEFC について再検討する必要性を示唆するとともに、マウス臼歯におけるセメント質の形成機序と機能的意義について新たな見解を提示するものである。

【参考文献】

Iwama H, Kaku M, Thant Lay, Mizukoshi M, Arai M, Ono Y, Kitami K, Saito I, Uoshima K. Acellular extrinsic fiber cementum is invariably present in the superficial layer of apical cementum in mouse molar. J Histochem Cytochem. 72 (2): 109-120, 2024.
(図はすべて参考文献より改変して引用)

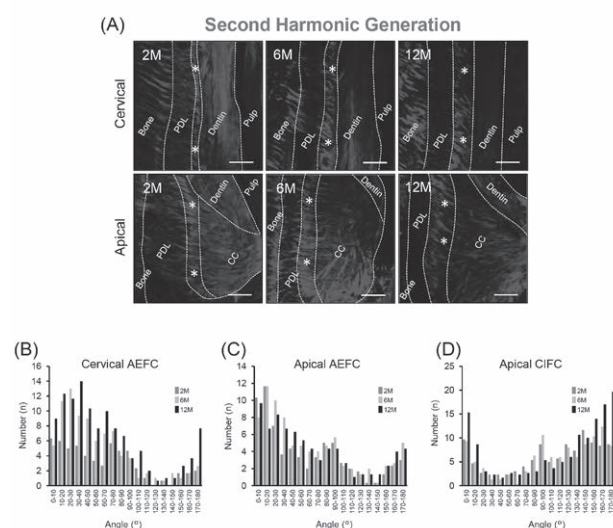


図3 セメント質中のコラーゲン線維に関する解析
(A) 多光子顕微鏡により SHG 画像として線維が検出された。*: AEFC, CC: 有細胞セメント質, スケールバー: $50\mu\text{m}$
(B) 歯頸側 AEFC (外部線維性セメント質) における線維の配向性。
(C) 根尖側 AEFC (外部線維性セメント質) における線維の配向性。
(D) 根尖側 CIFIC (固有線維性セメント質) における線維の配向性。