

[別紙2]

論文審査の結果の要旨

かとう あつひこ

申請者氏名 加藤 淳彦

本研究では、成熟ラット象牙芽細胞の正常分化および修復過程における Parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) とその受容体 (PTH/PTHrP 受容体1: PTHR1) の役割を検討した。

まず、正常成熟ラットの切歯構成細胞における PTHrP と PTHR1 の発現を検討した結果、象牙芽細胞の分化過程に一過性に発現することが示された。軟骨細胞における一過性発現は、分化調節に寄与することが知られることから、象牙芽細胞の両蛋白の一過性発現も分化調節に関与する可能性が示唆された。

次に、PTHrP 産生悪性腫瘍による高 Ca 血症 (humoral hypercalcemia of malignancy: HHM) のモデルラットを用い、切歯病変の病態把握を行った。その結果、PTHrP 産生腫瘍移植 12 週後に、過石灰化象牙質、象牙質のひ薄化および Dentin niche が認められ、過石灰化象牙質は、高 Ca 血症に随伴する病変であることから、同モデルの Ca 上昇が原因と考えられた。一方、象牙質のひ薄化および Dentin niche は、限定した分化段階の象牙芽細胞のみに生ずることから、局所因子として機能する PTHrP/PTHR1 軸が関与する可能性が考えられた。この内、象牙質のひ薄化は、同部で細胞丈を減少した高円柱状象牙芽細胞の蛋白分泌低下が背景にあり、本モデルの切歯破折の原因であると考えられた。しかし本病変の本態に関しては、本モデルの高 PTHrP 血症が高円柱状象牙芽細胞の丈を萎縮させた可能性と、円柱状から高円柱状象牙芽細胞への分化が遅延した可能性が考えられた。Dentin niche は、象牙芽細胞障害時の修復性変化として知られるが、PTHrP が細胞障害性を持つとの報告は無く、他組織では修復過程に関与するとされている。以上から本病変は、高 PTHrP 血症による、細胞障害を伴わない象牙芽細胞修復機構の特異的稼動と考えられたが、同病変形成に先立つ細胞障害の有無を確認する必要があるものと考えられた。

上記を受け、HHM モデルの切歯病変を経時的に観察した。その結果、高円柱状象牙芽細胞丈の減少は腫瘍移植 5 週後に円柱状から高円柱状に象牙芽細胞が分化する部位で初発し、8 週以降全高円柱状象牙芽細胞に及ぶこと、また 8 および 10 週で象牙質のひ薄化を伴うことが示された。この病変分布の推移と、他組織で既報告の PTHrP/PTHR1 軸への過剰刺激が分化遅延を惹起するとの事実から、本病態は、円柱状から高円柱状象牙芽細胞への分化遅延であると結論した。さらに同病変部は、正常成熟ラットでの PTHR1 発現減弱部に一致したことから、HHM モデルでは、これらの蛋白発現が変化している可能性が示唆された。これを免疫組織染色により検討した結果、HHM モデルの高円柱状象牙芽細胞は、通常では発現が減弱する PTHR1 を持続発現していた。以上と過去の報告を加味すると、HHM モデルで生じた円柱状から高円柱状象牙芽細胞への分化遅延は、高 PTHrP 血症により PTHR1 が持続発現し、PTHrP/PTHR1 軸へ信号入力が続いたことによるものと解釈された。翻って正常成熟ラットの高円柱状象牙芽細胞における

PTHrP/PTHr1 発現減弱は、PTHrP/PTHr1 軸への信号入力を減少させ、これが特殊化(高円柱化)を支持する仕組みであると考えられた。さらに、HHM モデルでの分化遅延が、象牙質をひ薄化させ、切歯を破折させたことを考えると、正常象牙芽細胞が持つ上記の仕組みは、象牙質分泌の亢進とその肥厚により、切歯の力学的強度の維持に寄与しているものと考えられた。

経時的な HHM モデルの観察により、Dentin niche は病態推移の後期に、先立つ細胞障害を伴わず発生することが示されたことから、その本態は、長期間の高 PTHrP 血症による修復機構の特発的稼動と推察された。しかし、細胞障害性物質誘発性の本来の修復変化において、PTHrP と PTHr1 の発現は未検討であることから、誘発物質として Actinomycin D を用い、誘発過程での PTHrP と PTHr1 発現を検討した。その結果、誘発 3 日後以降に出現する Dentin niche 構成細胞に両蛋白の強発現がみられ、象牙芽細胞修復性過程に PTHrP/PTHr1 軸の関与が示めされた。

以上の成績から、PTHrP/PTHr1 軸は正常成熟ラットの象牙芽細胞の分化過程において、円柱状から高円柱状象牙芽細胞への分化を調節し、切歯の力学的強度の維持に寄与するものと考えられた。また、象牙芽細胞の修復変化を構成する細胞に両蛋白の強発現が示され、他組織と同様に PTHrP/PTHr1 軸は、象牙芽細胞の修復過程に関与すると考えられた。

本研究の成果は、げっ歯類の切歯発育機序を解明する上で、また PTHrP 血症における病態発現機序を考える上で極めて重要な知見である。よって審査委員一同は本論文が博士(獣医学)の学位を授与するに値するものと認めた。