

最 終 試 験 の 結 果 の 要 旨

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 口腔科学講座 立花 要 　　　　　に
対する最終試験は、主査 猿田 樹理 准教授 、副査 井野 智 教授 、
副査 岩淵 博史 准教授により、論文内容ならびに関連事項につき口頭試問を
もって行われた。

その結果、合格と認めた。

主 査 猿田 樹理 准教授

副 査 井野 智 教授

副 査 岩淵 博史 准教授

論 文 審 査 要 旨

Distribution, nature, and origin of CXCL14-
immunoreactive fibers in rat parotid gland

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

口腔科学講座 立 花 要

(指 導： 槻木 恵一 教授)

主 査 猿田 樹理 准教授

副 査 井野 智 教授

副 査 岩渕 博史 准教授

論文審査要旨

学位申請論文である「Distribution, nature, and origin of CXCL14- immunoreactive fibers in rat parotid gland」は、免疫系細胞の誘導を担う生理活性ペプチドであるケモカインのひとつである CXCL14 のラット耳下腺における CXCL14 免疫陽性神経線維の分布、同定、およびその神経線維が含む神経伝達物質を免疫組織化学的に調査した論文である。

本研究は、ラット唾液腺における CXCL14 免疫陽性神経線維の分布、同定およびその神経線維が含む神経伝達物質を免疫組織化学的に明らかにし、さらに逆行性神経トレーサーを用いて CXCL14 免疫陽性神経線維の起始神経節を同定する目的で行われており、唾液腺における CXCL14 との関連性はこれまで明らかにされておらず本論文において実証しようとする研究目的は明確で高く評価できる。

研究方法の概略は雄の Sprague-Dawley 系ラットを用い、麻酔下にて灌流固定後、迅速に耳下腺、顎下腺および舌下腺を摘出した。摘出した唾液腺を固定後、10%ゼラチンに包埋し、20%スクロースに浸漬後、厚さ 20 μm の連続凍結標本を作製した。まず、耳下腺、顎下腺、舌下腺における CXCL14 の局在を検討するために免疫染色を行い、チオニン染色で対比染色をした後、光学顕微鏡にて観察を行った。その後、耳下腺の CXCL14 免疫陽性神経線維の性質を決定するために、neuropeptide Y (NPY)、vasoactive intestinal peptide (VIP)、tyrosine hydroxylase (TH)、および choline acetyltransferase (CAT) に対する免疫染色を行い、蛍光顕微鏡下で観察をした。さらに、horseradish peroxidase-labeled wheat germ agglutinin (WGA-HRP) を逆行性神経トレーサーとして使用することによって、耳下腺 CXCL14 免疫陽性神経線維の起始神経節を同定した。以上の研究方法是妥当であると判断される。

なお、本研究は神奈川歯科大学動物倫理委員会の承認を受け、定められた動物実験指針を遵守して行われており、倫理的に問題ないと判断される。

結果として、CXCL14 免疫陽性神経線維は耳下腺、顎下腺、および舌下腺に分布したが、特に耳下腺に多く分布していた。耳下腺組織では、漿液細胞の基底膜に多く分布していた。同一切片を用いた蛍光二重免疫染色により、漿液細胞の基底膜における CXCL14 免疫陽性神経線維は NPY 作動性神経線維と共存していたが、血管周囲の NPY 免疫陽性線維は CXCL14 に対して免疫陰性であることが多かった。耳下腺の CXCL14 免疫陽性神経線維はカテコールアミン作動性神経のマーカーである TH に対して免疫陽性であったが、コリン作動性神経のマーカーである CAT および血管作用性腸管ペプチドである VIP に対しては免疫陰性であった。また、WGA-HRP を耳下腺に微量注入すると、交感神経性の上頸神経節および副交感神経性の耳神経節に逆行性に標識されたニューロンが認められた。上頸神経節の WGA 免疫陽性神経細胞の一部は CXCL14 に対して免疫陽性であったが、耳神経節には二重標識される神経細胞体は認められなかった。以上の結果は、妥当なものであり明確な結果がまとめられている。

本論文では、耳下腺組織での CXCL14 免疫陽性神経線維は上頸神経節由来で交感神経性であり、CXCL14 と NPY/TH が共存することが明確となったという、新しい知見を提供

した点は高く評価できる。今後、耳下腺、顎下腺、および舌下腺組織における CXCL14 遺伝子の発現・局在や CXCL14 免疫陽性神経線維の超微構造の観察および CXCL14 受容体を検討することで、唾液腺における CXCL14 の機能および神経-免疫システムの解明につながることを期待される。

本審査委員会は、論文内容および関連事項に関して、口頭試問を行った。特に、①唾液腺における解剖学、組織学および神経生理学的知識、②一次抗体の特異性およびポジティブコントロール・ネガティブコントロールの確認、③免疫組織化学的染色の手技、④本研究結果が示す新知見および考察、⑤本研究の限界および今後の研究展開の可能性について、重点的に確認をした。

本審査委員会は、論文内容および関連事項に関して、口頭試問を行ったところ十分な回答が得られることを確認した。さらに、本研究結果が示す耳下腺における CXCL14 免疫陽性神経線維の分布、神経活性物質との共存および上頸神経節と CXCL14 の分布における新しい知見は、今後の歯科医学の伸展への貢献が期待でき、唾液腺における神経-免疫システムの研究の解明につながるとの結論に至った。そこで、本審査委員会は申請者が博士（歯学）の学位に十分値するものと認めた。