

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 口腔機能修復学講座 歯科矯正学

杉 村 太 丈 に対する最終試験は、主査 森本 佳成 教授、副査 槻木 恵一
教授、副査 吉野 文彦 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 森 本 佳 成 教 授

副 査 槻 木 恵 一 教 授

副 査 吉 野 文 彦 准 教 授

論文審査要旨

ラット顎下腺主導管に分布する神経終末と顎下神経節ニューロンの生後発達に関する形態学的および免疫組織化学的研究

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

口腔機能修復学講座 歯科矯正学 杉村 太丈

(指導：高橋 理 教授)

主査 森本 佳成 教授

副査 槻木 恵一 教授

副査 吉野 文彦 准教授

論文審査要旨

学位申請論文である「ラット顎下腺主導管に分布する神経終末と顎下神経節ニューロンの生後発達に関する形態学および免疫組織化学的研究」は、ラット顎下神経節ニューロンと顎下腺主導管の形態および主導管に分布する神経終末の生後変化について超微形態学的な解析と免疫組織化学的な検索を行い、比較検討した論文である。

過去の研究から主導管は唾液への電解質添加あるいは吸収を行う事実が報告され、さらに主導管上皮についても種々の報告がある。すなわち、多列円柱上皮を呈する上皮組織には上皮細胞に加えて刷子細胞、および基底顆粒細胞の存在が報告される。一方で交感神経および副交感神経興奮薬をラットへ投与した場合、顎下腺主導管の上皮細胞に形態学的な変化が生じることが知られる。さらに主導管の上皮組織基底部には顎下神経節由来の神経終末が分布する。また生後発達においては、腺房細胞に接する神経終末の神経活性物質が個体の成長とともに変化することも報告されているが、その詳細は検討されていない。

本研究ではラット顎下腺神経節ニューロンおよび主導管を構成する細胞の生後発達を超微細的に検索すること、また、ラット顎下神経節、主導管、および導管周囲の細動脈に分布するシナプトフィジン免疫陽性神経終末の生後発達について、免疫組織化学的な研究方法を用いて検索する目的で行われており、研究目的は明確で高く評価できる。

研究方法の概略は以下のとおりである。

実験動物には 1、2、3、4、8 週齢 Wistar 系雄ラットを用い、主導管の上皮組織について生後発達における形態学的変化を解析した。さらに顎下腺と周囲組織に分布する顎下神経節ニューロンを三次元的に解析し、細胞体の断面積について画像解析装置を用い解析した。そして顎下神経節ニューロンの神経活性物質およびシナプトフィジンの生後変化について顎下腺導管および細動脈における neuropeptide Y (NPY)、vasoactive intestinal polypeptide (VIP)、serotonin (5-HT)、および synaptophysin (SYP) に対する抗体を用い免疫染色（二重標識）を行い、免疫組織化学的に解析した。以上の研究方法は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、倫理的な問題はないと判断される。また、統計学的手法として、得られた値には正規性はないため、Kruskal-Wallis 検定を行った後、post-hoc 検定として Mann-Whitney U 検定を行い、有意水準 5% に Bonferroni の補正を行っており、研究方法および統計学的解析手法は妥当であると判断される。

結果として、

主導管の上皮組織は生後 1~2 週では重層上皮を呈し、生後 3 週では単層もしくは多列上皮、生後 4 週齢以降では多列円柱上皮を呈し、生後 8 週齢の上皮組織と形態学的に近似し

た。次に顎下神経節を構成する楕円形の大型ニューロンの断面積は生後 2~3 週齢を除き経時的に増加した。また主導管および細動脈の VIP 陽性神経終末は生後 1, 2 週齢では観察されなかったが、生後 3 週齢以降では著明な増加が観察された。さらに顎下腺主導管に分布するシナプトフィジン免疫陽性神経終末の数は発達に伴い増加したが、4~8 週齢では減少した。

以上の結果より、主導管の上皮組織が形態学的に変化した生後 3 週齢は、顎下神経節ニューロンの断面積の増大および VIP 免疫陽性神経終末の発現時期と一致し、離乳刺激との関連性が示唆された。以上の結果は、適切な方法により導き出された明快な結果であり、顎下神経節ニューロンの増大や主導管・細動脈の VIP 免疫陽性細胞の増加する時期が、吸啜から咀嚼へと移行する時期と一致し、両者が関連している可能性が示唆された点は重要である。

本審査委員会は、論文内容および関連事項に関して、以下の口頭試問を行った。

1. 重層上皮から多列上皮への移行に関し、それぞれどのような形態の細胞であるかの問いに対し、組織学的には重層立方上皮とみられる部分と、円柱多列上皮または立方多列上皮とみられる部分があるとの回答であった。また、重層上皮は基底膜上の細胞が重なっている形態であり、多列上皮は基底膜に接し細胞がつながっている形態であるとの回答であった。
2. 生後 3 週で重層上皮から多列上皮へ移行することに関し、その生理学的意義についての問いに対し、多列上皮は分泌機能を有する組織に多いことから、吸啜から咀嚼への移行時期と重なり唾液の分泌に何らかの関連がある可能性があるとの回答であった。
3. ニューロン数が 8 週目で減少することに関して「刈り込み」について質問があり、「刈り込み」は比較的新しい概念で、従来は中枢で起こると考えられてきたが、末梢でも起こると考えられること、神経が成熟すると数が減少しても機能が発揮されると考えられることが回答された。
4. 研究方法について、組織の固定方法が明確には記載されていない部分があり、還流固定を用いたことが回答された。
5. 方法に、細胞の断面積の測定方法および細胞個数の測定方法の記載が全くないので、記載してもらうことになった。
6. 実験に耳下腺を用いなかった点に関し、実験手技的な面から顎下腺のほうがより容易であるためであると回答された。
7. 統計解析はノンパラメトリックの手法を用いているので、結果に記載されている「平均」ではなく、中央値（四分位）を用いるべきであるので、再検討していただくことになった。
8. グラフ中に有意差を示すバーがあった方が分かりやすい。また、図 10 と図 21~24 で、グラフの legends の書き方が大きく異なるので、必要な情報を記載してもらう。

以上、いずれの質問についても十分な回答が得られることを確認した。さらに吸啜から咀嚼へ移行する3週齢で、顎下神経節ニューロンは増大し、顎下腺主導管および周囲の細動脈ではVIP免疫陽性細胞が増加することから、これらの新しい知見は唾液分泌機構の生後発育において咀嚼との密接な関係性が示唆され、今後の歯科医学および唾液分泌制御の研究の発展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の博士論文が博士（歯学）の学位に十分に値するものと認めた。