

Migration and Differentiation of GFP-transplanted
Bone Marrow-derived Cells into Experimentally
Induced Periodontal Polyp in Mice
(マウスにおける実験的に発生させた歯根膜ポリープへの
GFP 移植骨髄由来細胞の移動と分化)

松田 紗衣佳

松本歯科大学 大学院歯学独立研究科 硬組織疾患病態解析学講座
(主指導教員：川上 敏行 教授)

松本歯科大学大学院歯学独立研究科博士（歯学）学位申請論文

Migration and Differentiation of GFP-transplanted Bone
Marrow-derived Cells into Experimentally Induced
Periodontal Polyp in Mice

SAEKA MATSUDA

*Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University
(Chief Academic Advisor : Professor Toshiyuki Kawakami)*

The thesis submitted to the Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University, for the degree Ph. D. (in Dentistry)

【緒言】

歯根膜ポリープについて古くから実験病理学的な研究は為されており、その病理組織学的な消長や処置に関する研究は数多くある。しかし、その細胞供給がどこから行われているかは明確にされていない。そこで、GFP マウスの骨髄移植の実験系を用いてこの部の細胞が骨髄の間葉細胞に由来するとの仮説のもと、歯根膜ポリープを形成する肉芽組織の構成細胞の動態を追究した。

【材料・方法】

実験には GFP 骨髄移植 マウスモデルを使用

し、上顎第一臼歯の髓床底部を1/2歯科用ラウンドバーを用い穿孔した。m_CTと病理組織学的に検討するとともに、GFPについて免疫組織化学的にその動態を追究するとともに、GFP-S100A4, GFP-Runx2, GFP-CD31について蛍光二重染色により検討した。

【結果】

m_CT像では、どの時期においても、歯槽骨の吸収と歯根膜腔の拡大が生じていた。術後2週間の病理組織像では増殖細胞の主体は、線維芽細胞であり、その細胞の形態は、短い紡錘形で、その

核は比較的丸いものが多かった。肉芽組織の最表層には、細胞間橋の明瞭な多角形の上皮細胞が増殖していた。当該の歯根膜部には正常な生理的な配列の歯根膜組織は無く、一部に好中球などの炎症性細胞が認められた。術後1ヶ月の病理組織像では、線維芽細胞は2週と同様、核は丸みをおび、肉芽組織の主をなしていた。髓床底直下にできた肉芽組織は穿孔部より髓腔内に盛り上がり、最表層は、重層扁平上皮で覆われていた。毛細血管は、2週と比較して増殖し、とくに上皮直下に多く存在していた。術後3ヶ月では、増殖した肉芽組織内の線維芽細胞の核は扁平に変化し、膠原線維が目立つようになってきた。重層扁平上皮は厚みを増していた。毛細血管は、肉芽組織内に多数存在した。術後6ヶ月では、増殖した肉芽組織には、膠原線維と、核の扁平な線維芽細胞が、より目立ち、リンパ球はその中に点在していた。GFPの免疫染色では、当該部の肉芽組織内にGFP陽性細胞が多数みられた。これらGFP陽性細胞について、その細胞種の同定を行うために、蛍光免疫二重染色を行った。GFP-S100A4の組み合わせでは、2週、6ヶ月ともに、紡錘形の核を持った長紡錘形の細胞に緑色蛍光を示すGFP陽性所見があり、これらの外形を示す細胞に赤色反応のS-100A4陽性反応が認められた。これらを重ね合わせによって確認すると、橙色に発色する両者の一致を示す場所があった。さらに核を青色蛍光に発色するDAPIと重ね合わせると、橙色は核の周囲を取り込むように認められた。GFP-Runx2の組み合わせについては、肉芽組織内には、紡錘状で、丸みをおびたものがあり、同部位には緑色蛍光を発するGFP陽性所見があり、これらの外形を示す細胞に、赤色蛍光のRunx2陽性所見が認められた。これを重ね合わせによって確認すると、

橙色に発色する両者の一致を示した。形態は、さらに核を青色蛍光に発色するDAPIと重ね合わせると、橙色は核の周囲を取り込むようになっていた。GFP-CD31では、明瞭な血管腔がみられる部位では、血管内腔面にGFP陽性の内皮細胞の細胞質が配置していた。この血管腔を作る血管内皮細胞に赤色蛍光のCD31陽性反応が認められた。これらの重ね合わせでは、GFP-S100A4、GFP-Runx2と同様であった。

【考察】

今回GFPマウスの第一臼歯の髓床底を穿孔して根分岐部病変を形成し、病理組織学的に病変の進展過程や、増殖した肉芽組織の構成細胞の由来を明確にすることとした。その結果、病理組織学的検討では、初期では若干の化膿性炎症が引き起こされるが、次第に慢性炎症として肉芽組織の増殖が起きていくことが分かった。蛍光二重染色を行った結果、GFP-S100A4では、紡錘形細胞にS100A4陽性反応がみられ、かつ、GFP陽性反応を示したことから通常型の線維芽細胞が骨髓由来であることが分かった。GFP-Runx2では、肉芽組織内の紡錘形細胞にRunx2陽性反応を認め、GFP陽性反応を示したことから、通常の線維芽細胞とは異なった歯根膜線維芽細胞も骨髓に由来することが示唆された。GFP-CD31において、形態学的に明瞭な血管においてCD31陽性反応を示し、GFP陽性反応を認めたため、血管内皮細胞も骨髓細胞に由来するものがあることが示された。以上から、髓床底穿孔部にできた歯根膜ポリープには、毛細血管内皮細胞や、線維芽細胞、歯根膜線維芽細胞が増殖本態であり、これらはいずれも移植骨髓細胞に由来するものであることが分かった。