

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙 第 号	論文提出者名	佐久間 千里
論文審査 委員氏名	主査 副査	夏目 長門 特殊診療科教授 前田 初彦 教授 池田 やよい 教授	
論文題名	TCDD 投与マウスにおける口蓋癒合後の 離開による口蓋裂発生機序に関する 組織学的研究および免疫組織学的研究		

インターネットの利用による公表用

口蓋裂の発生機序の詳細については未だ不明な点が多い。申請者は、本研究で口蓋形成期の 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (以下 TCDD) への暴露によって生じる口蓋組織構造の異常が通常的口蓋裂の機序とは異なり、一度癒合した口蓋が離開して口蓋裂を発症しているとの仮説を立て、その現象について証明するための実験を行っていた。

研究材料および方法は、研究室の先行研究を参考に、対照群にはトルエン含有オリーブ油、TCDD 投与群には口蓋裂を 100% 発症する濃度の TCDD40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をトルエン含有オリーブ油に溶解したものを、妊娠 12 日の ICR 系妊娠マウスに単回経口投与し、対照群は胎生 14 日、TCDD 投与群は胎生 15 日に摘出し、各種組織学的並びに免疫組織学的分析を行っていた。

その結果、H-E 染色では、TCDD 投与群では口蓋後方部において、口腔側からの口蓋の離開を認めていた。免疫組織学的分析では、上皮および上皮細胞間接着因子、基底膜の観察において、対照群の前方と後方の口蓋では、口蓋鼻腔側および口腔側粘膜、上皮索において E-cadherin、 β -catenin、 α -catenin は上皮細胞に陽性を示し、laminin は連続的な染色像を認めていた。TCDD 投与群の前方の口蓋癒合部では、鼻腔側および口腔側粘膜、上皮索において E-cadherin、 β -catenin、 α -catenin は上皮細胞に陽性を示し、鼻腔側粘膜および上皮索において laminin は連続的な染色像を認めたが、口腔側粘膜では不連続な染色像を認めていた。TCDD 投与群の後方の離開部では、 β -catenin、 α -catenin の局在は対照群と同様であったが、

laminin は口腔側粘膜において不連続な染色像を認め、同部の上皮細胞は E-cadherin 陰性であった。また、口蓋離開部付近の上皮索において E-cadherin、 β -catenin、 α -catenin は上皮細胞に陽性を示し、laminin の染色像を認めていた。一方、アポトーシス（細胞死）の観察において、対照群では、前方および後方の口蓋において上皮索に TUNEL 陽性細胞を認めていた。TCDD 投与群では、前方の口蓋癒合部において上皮索に TUNEL 陽性細胞を認め、後方の口蓋離開部では、離開部周囲に TUNEL 陽性細胞を認めていた。また、細胞増殖の観察において、対照群の口蓋は、前方では鼻腔側および口腔側粘膜、上皮索周囲に Ki67 陽性細胞を認め、後方では口蓋棚全体に Ki67 陽性細胞を認めていた。TCDD 投与群では、前方の口蓋癒合部において Ki67 陽性細胞の局在は対照群と同様であったが、後方の口蓋離開部においては離開部周囲に Ki67 陽性細胞を認めることを明らかにしていた。

本研究において、複数の TCDD 投与マウス胎仔で口蓋前方の癒合および後方の離開を認め、口蓋癒合後の離開により口蓋裂を発生するという口蓋裂発生機序の再現性が確認されていた。左右の口蓋突起が接触後に癒合する際には、上皮索において上皮間葉転換やアポトーシスを生じているとされており、本研究では口蓋は癒合中に離開に至っていることが確認されていた。

また、TCDD 投与マウスでは、加速度的な細胞増殖が関与して上皮索の細胞の分化を阻害することにより口蓋裂を発生する可能性が報告されており、

本研究において、TCDD 投与群では後方の口蓋離開部周囲に細胞増殖を認めたことから、異常な細胞増殖が生じることにより口蓋癒合中に上皮索細胞の分化が阻害され、口蓋の離開が生じる可能性について考察していた。

癒合している組織が断裂する現象としては、がんの浸潤・転移が知られており、がん細胞が他の組織へ移動する際には、基底膜の破壊を伴うとされ、本研究において、TCDD 投与群の口蓋離開部を含む口蓋粘膜で上皮および基底膜の断裂を認めていたことから、口蓋癒合後の離開による口蓋裂の発生原因の一つには基底膜構造の異常があることを示唆していた。さらに、TCDD により上皮組織の脆弱性を生じるという報告から、TCDD 投与群では基底膜の断裂とともに上皮細胞間接着の低下を生じることにより上皮組織の強度が不足した結果、一度癒合した口蓋が離開すると考えており、本研究の TCDD 投与群の口蓋において確認された基底膜および上皮の消失から、癒合後の口蓋が離開する機序が、がんの転移に似た機序である可能性があると考察していた。

以上のように本研究では、従来より認知されていた3種類の口蓋裂の発症機序に加えて、一度癒合した口蓋が離開して口蓋裂が発症する事例がある事を証明するとともに、その発症のメカニズムは基底膜の断裂が関与し、がんの転移に類似していることを初めて明らかにした。

将来、本研究から口蓋の離開を阻止する要素が発見される可能性が考えられ、新たな口蓋裂発症の予防法の確立につながることも期待されること

(論文審査の要旨)

No. 4

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

から、今後の口腔外科学、口腔病理学、口腔解剖学ならびに関連諸学科に寄与するところが大きい。よって本論文は博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。