

ラット切歯エナメル芽細胞の
ヘミデスモソーム形成について

Hemidesmosome formation in the ameloblasts
during amelogenesis of rat incisors

西川 純雄

Sumio NISHIKAWA

「鶴見大学紀要」第47号 第4部

人文・社会・自然科学編（平成22年3月）別刷

ラット切歯エナメル芽細胞のヘミデスモソーム形成について

Hemidesmosome formation in the ameloblasts during amelogenesis of rat incisors

西川 純雄

Sumio NISHIKAWA

要旨

基質形成期後期、移行期、成熟期初期のエナメル質とエナメル芽細胞の界面を透過型電子顕微鏡で観察しヘミデスモソームと基底膜の形成を調べた。この結果移行期までは目立った細胞基質間結合装置は認められず、成熟期になって初めてヘミデスモソームと基底膜が認められた。細胞と基質との間の接着の喪失に由来するアポトーシス (Anoikis) との関連が考察された。

はじめに

エナメル芽細胞はそもそも、口腔内の上皮細胞と神経堤由来の外胚葉性間葉との間の相互作用の結果として、硬組織のひとつであるエナメル質を形成するようになった細胞である。間葉側では象牙芽細胞として分化し、象牙質を形成することになる。はじめは、内エナメル上皮細胞として短い円柱状の細胞として観察される。この細胞と間葉の間には基底膜があり、これを介して両者が結合している。この基底膜は分化の過程で消失し、エナメル基質が作られるようになる (Nanci, 2008)。基底膜の構成成分である type-IV collagen の免疫電子顕微鏡的研究によれば (Sawada et al., 1990)、内エナメル上皮細胞 (分化期エナメル芽細胞) が type-IV collagen を含む基底膜成分を被覆小胞によって吸収し、この結果基底膜が消失する。基底膜はすべての上皮細胞を支える土台として必須な構造で、多細胞生物にとって普遍的である (Alberts et al., 2008)。基質形成期エナメル芽細胞は、このように、基底膜を失った状態でエナメル質を形成していくことになる。

基質形成期を終了するとエナメル芽細胞は、短い移行期を経て長い成熟期へ入る。成熟期エナメル芽細胞はその遠位端、すなわちエナメル質表面の側にヘミデスモソームを発達させるようになる。この結果、新たに形成された基底膜と共にエナメル質とエナメル芽細胞が強固に接着されるようになる。本研究では、移行期から成熟期初期にかけて、ヘミデスモソーム形成の過程を透過型電子顕微鏡により、観察したのでその結果を報告する。

材料と方法

Wistar系雄ラット (体重210~220g) を用いた。動物は sodium pentobarbital で深く麻酔し、5% グルタルアルデヒド溶液で室温、15分間灌流固定した。上顎と下顎を取り出し、上顎切歯と下顎切歯を注意深く切り出した。同じ固定液中で4℃、2時間固定を行った。0.05M リン酸緩衝液で洗浄した後、5% EDTA で3-4週間低温室の中で脱灰した。脱灰後0.05M リン酸緩衝液で洗浄した後、2% 四酸化オスミウムで2時間後固定した。エタノールで脱水、プロピレンオキサイドで置換した後、Epon812 (TAAB, Reading, UK) に包埋した。超薄切片は酢酸ウラニールとクエン酸鉛で電子染色し、Jeol JEM1200EXII (Jeol, Tokyo, Japan) 電子顕微鏡で観察した。

結果と考察

基質形成期と成熟期の間の移行期では、細胞はトームス突起を失い、遠位端は平坦であった (図1a)。細胞膜とエナメル質の間は約50nmの隙間があり、特に目立った構造があるようには見えない。一方、成熟期に入ると細胞膜は波状縁を形成し多くの膜の折り返しが見られるようになった。この中には分解吸収されたエナメル基質と思われる電子密度の高い球状の構造が、頻繁に認められた。細胞膜とエナメル基質の間には電子密度の高くなった基底膜様の構造がみられた (図1b)。

基質形成期後期のトームス突起の部分を実拡大で観察すると、エナメル質の結晶は脱灰の結果溶解し白く抜け、その回りの有機質が電子密度が高く、結晶の横断像ではリング状にみえていた (図2a)。トームス突起

の細胞膜にはエナメル基質との接着は特に認められない (図2a)。基質形成期ではエナメル芽細胞はエナメル基質を分泌しながら後退していることを考えると、むしろ強力な接着装置は不都合になるのかもしれない。しかし一方では、エナメルタンパク質のひとつであるアメロプラスチンは基質形成期を含む広い範囲にエナメル基質中に分泌されているが (Nanci et al., 1998)、アメロプラスチンをノックアウトした動物ではエナメル芽細胞とエナメル質表面の接着が失われ、はがれていくことが報告されている (Fukumoto et al., 2004)。したがってなんらかの接着構造がエナメル基質側にあることが予想される。移行期になるとトームス突起は失われエナメル基質との間には前述のように隙間が見られるが、強拡大で見ても特に結合装置が作られているようには見えない (図2b)。成熟期に入ると、波状縁のエナメル質に接している所では明瞭なヘミデスモソームができていく。この部分の細胞膜は20 nmくらいの電子密度の高い部分が細胞質側に見られるが、ここから出ているケラチン線維は明瞭ではない。ヘミデスモソームの細胞外のところは電子密度の低い層を挟んで密度の高い鋭い線が細胞膜表面から約10 nm隔てて見られた。さらにその外側には電子密度の高い基底膜が見られた (図2c)。基底膜の透明層 (lamina lucida) や緻密層 (lamina densa) は区別できない。

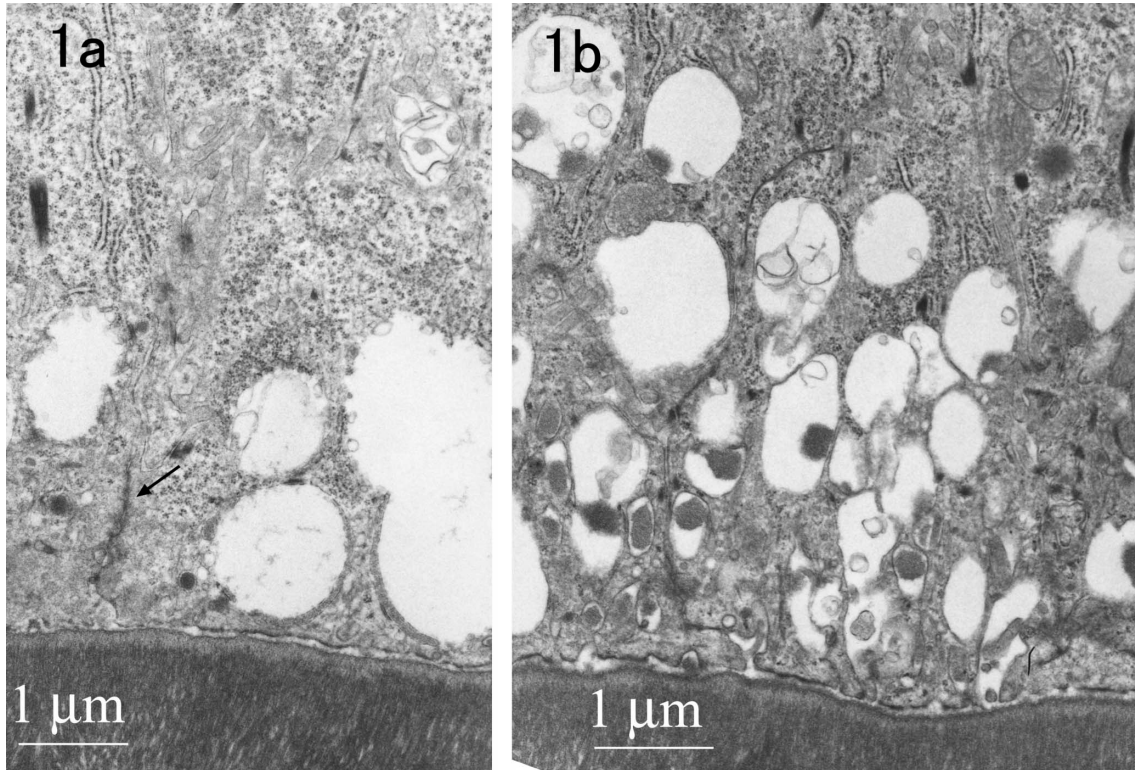
成熟期の基底膜に存在する新規タンパク質として Amelotin も報告されている (Nanci, 2008)。このような細胞接着は細胞の生存シグナルとして働き、接着を失うとアポトーシスを起こすことが知られている。このようなアポトーシスを Anoikis という (Valentijn et al., 2004)。ラット切歯のエナメル芽細胞では全エナメル芽細胞の25%がその移行期でアポトーシスにより消失することが知られている (Smith and Warshawsky, 1977; Nishikawa and Sasaki, 1995)。今回、エナメル質形成の移行期で特別な接着装置が見られないことは、この時期でのエナメル芽細胞の消失が Anoikis によるものであることを想像させる。成熟期エナメル芽細胞にはヘミデスモソームと基底膜が認められ、生存シグナルにより細胞死を免れると考えるならば、理解しやすいことかもしれない。しかしなぜ25%のエナメル芽細胞が移行期で選択され細胞死し、75%の細胞が生存するのか、その原因については不明であり、今後の一層の研究が必要と思われる。

謝辞

本研究の一部は文部科学省ハイテク・リサーチ・センター整備事業 (平成17年度～平成21年度) の補助によって行われた。

文献

- Fukumoto S, Kiba T, Hall B, Iehara N, Nakamura T, Longenecker G, Krebsbach PH, Nanci A, Kulkarni AB, Yamada Y (2004) Ameloblastin is a cell adhesion molecule required for maintaining the differentiation state of ameloblasts. *J Cell Biol*, 167:973-983.
- Nanci A (2008) *Ten Cate's Oral Histology*, 7th ed., Mosby, St. Louis, MO.
- Nanci A, Zalzal S, Lavoie P, Kunikata M, Chen W, Krebsbach PH, Yamada Y, Hammarström L, Simmer JP, Fincham AG, Snead ML, Smith CE (1998) Comparative immunochemical analyses of the developmental expression and distribution of ameloblastin and amelogenin in rat incisors. *J Histochem Cytochem*, 46:911-934.
- Nishikawa S, Sasaki F (1995) DNA localization in nuclear fragments of apoptotic ameloblasts using anti-DNA immunoelectron microscopy: programmed cell death of ameloblasts. *Histochem Cell Biol*, 104:151-159.
- Sawada T, Yamamoto T, Yanagisawa S, Takuma S, Hasegawa H, Watanabe K (1990) Evidence for uptake of basement membrane by differentiating ameloblasts in the rat incisor enamel organ. *J Dent Res*, 69:1508-1511.
- Smith CE, Warshawsky H (1977) Quantitative analysis of cell turnover in the enamel organ of the rat incisor. Evidence for ameloblast death immediately after enamel matrix secretion. *Anat Rec*, 187:63-98.
- Valentijn AJ, Zouq N, Glimore AP (2004) Anoikis. *Biochem Soc Trans*, 32:421-425.



図の説明

図1a. 移行期のエナメル芽細胞遠位部とエナメル質。細胞膜とエナメル質との間にすきまがあるが、特別な接着装置は作られていない。矢印は細胞間結合装置を示す。

図1b. 成熟期初期のエナメル芽細胞遠位部とエナメル質。細胞膜とエナメル質の間には細胞基質間結合装置が作られ始め基底膜様の電子密度の高いところが見られる。

図の説明

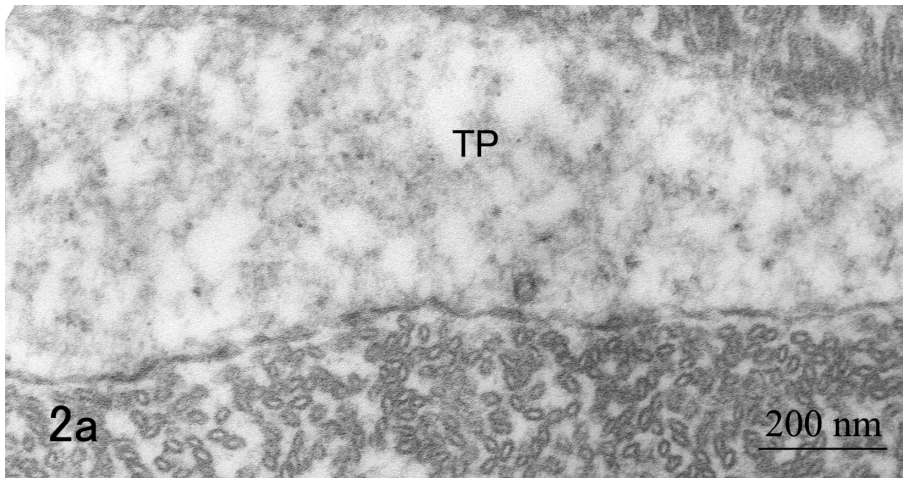


図2a. 基質形成期後期のエナメル芽細胞トームス突起 (TP) とエナメル質。トームス突起の細胞膜内外には特に電子密度の高い構造は認められない。細胞内の裏打ち構造は発達せず、細胞外のエナメル基質と細胞膜の間にも構造は認められない。エナメル質結晶の横断面で周囲を取り巻いている有機質は電子密度が高く観察され、中心の結晶は脱灰されクリスタルゴーストになっている。

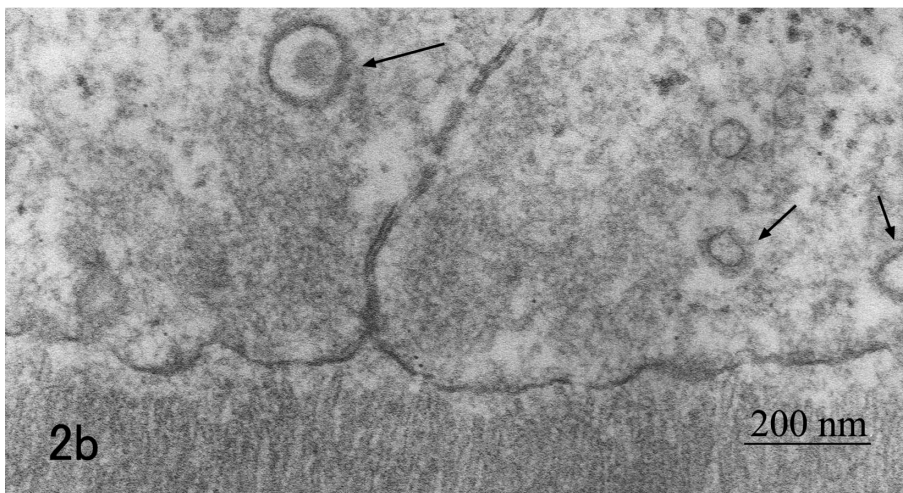


図2b. 移行期のエナメル芽細胞遠位端の細胞膜とエナメル質。縦断されたエナメル質結晶のクリスタルゴーストの集団を含むエナメル基質とエナメル芽細胞の細胞膜との間には数十nmの空間があるが、特に間を埋める構造は認められない。エナメル芽細胞遠位端の細胞膜には特に目立った構造は認められない。被覆小胞 (矢印) が見られ、エナメル基質を吸収し始めているように見える。

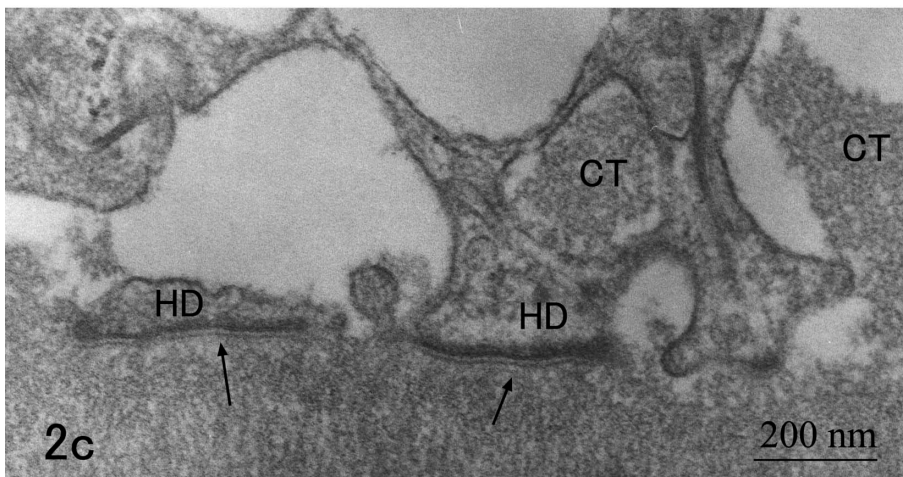


図2c. 成熟期初期のエナメル芽細胞遠位端とエナメル質。細胞膜は入り組んで、波状縁ができ始め、エナメル質と接しているところではヘミデスマソームが形成されている (HD)。エナメル基質の間には電子密度の高い基底膜が作られ始めている (矢印)。波状縁の中には粗い電子密度の高い物質が見られる (CT)。

西川純雄
〒230-8501
横浜市鶴見区鶴見2-1-3
鶴見大学歯学部生物学研究室

Sumio Nishikawa
Department of Biology
Tsurumi University School of Dental Medicine
2-1-3 Tsurumi, Tsurumi-ku, Yokohama 230-8501
E-mail: nishikawa-s@tsurumi-u.ac.jp