

## 歯科矯正学的メカニカルストレスによるマウス歯周組織に 惹起される HSP 27の免疫組織化学的推移

共田 真紀

松本歯科大学 大学院歯学独立研究科 硬組織疾患制御再建学講座

Immunohistochemical change of Heat shock protein 27 expression in the mouse  
periodontal tissues exposed to orthodontic mechanical stress

MAKI TOMODA

*Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine,  
Matsumoto Dental University*

Tomoda M, Nakano K, Muraoka R, Matsuda H,  
Yamada K and Kawakami T (2012) *J Hard Tissue Biol* **21** : 43–50.

### 【目的】

歯科矯正力はメカニカルストレスとして働き、歯根膜や歯槽骨など周囲の歯周組織に影響を与え、歯周組織に改造現象が惹起される<sup>1,2)</sup>。歯根膜の圧迫側では歯根膜線維の圧縮が起こり、牽引側では伸展が起こる。この時の矯正力により圧迫側の歯根膜部では血流障害が起こる。このような状態にも関わらず、歯根膜組織の細胞は死滅せず、その後も歯根膜としての生理的機能を果たし順応できるのは、矯正力によるメカニカルストレスに対して歯根膜の細胞を保護し、ダメージを受けた細胞の修復を行う因子が働いているからである。この因子の一つはHeat Shock Proteins (HSPs)である<sup>3)</sup>。したがって、この時の歯根膜組織に発現するHSPsの発現や動態、役割を明らかにする事は重要である。本研究では、マウス歯周組織にメカニカルストレスを負荷した3時間後に解除し、その後の歯根膜組織における歯根膜組織の変化を病理組織学的に追究すると共に、HSPの中でも低分子量HSPに属するHSP 27に着目し、同時にp-HSP 27についても免疫組織化

学的に検討を行った。

### 【材料と方法】

実験動物には8週齢のddY雄性マウスを計40匹使用した。マウス歯根膜部に持続的にメカニカルストレスを負荷するため、Waldo法にて上顎右側第一臼歯と第二臼歯間にセパレーターの挿入を行った。Matsudaら<sup>1)</sup>により、メカニカルストレス負荷後の3時間で圧迫側の歯根と歯槽骨が近接する事が判明しているため、負荷後3時間で一旦セパレーターを除去し、メカニカルストレス解除後の20分から最大1週後にマウス上顎右側臼歯部歯周組織を摘出し、パラホルムアルデヒド0.05 Mリン酸緩衝固定液にて24時間固定、パラフィンにて包埋し、厚さ5 µmの水平断連続切片を作製し、病理組織学的および免疫組織化学的検索を行った。一次抗体として抗マウスHSP 27マウスモノクローナル抗体(HSP 27 (SPM 252) : sc-65567, Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA, USA. 希釈倍率1 : 1000)と抗マウスp-HSP 27ウサギポリクローナル抗体(p-HSP 27 (Ser 15) : sc-101699, Santa Cruz Biotech-

nology Inc., Santa Cruz, CA, USA. 希釈倍率 1 : 1000) を用いた。対照群として、メカニカルストレス解除直後のマウス上顎右側歯周組織を用いた。

#### 【結果と考察】

メカニカルストレスを負荷後、3 時間で解除し H-E 染色にて病理組織学的検討を行ったところ、対照群では歯根の相対移動は最大となり、圧迫側では歯根膜線維芽細胞の退行性変化が認められた。対照群の病理組織像との比較において実験群では、メカニカルストレス解除後の初期変化は 20 分で起こっており、メカニカルストレス解除により歯根が遠心に復位傾向にあり、24 時間群まで歯根は移動し退行性変化を認めたが、3 日群以降には歯根の移動はなく、退行性変化は消失していた。これらの所見は時間の経過と共に回復しているようであった。

免疫組織学的結果については、メカニカルストレス負荷 3 時間での対照群は牽引側の歯根膜線維芽細胞の HSP 27 と p-HSP 27 共に、陽性反応があった。圧迫側においては HSP 27 と p-HSP 27 共に陰性反応であった。

実験群のメカニカルストレス解除後の HSP 27 と p-HSP 27 の発現状況は、牽引側の歯根膜線維芽細胞では 20 分という短時間で陽性反応を示した。この陽性反応は時間の経過と共に増強し、発現領域は歯根膜腔の頬側・口蓋側方向へと拡大していた。また 24 時間群で歯根の移動は停止し、歯

根膜全周において HSP 27 と p-HSP 27 共に強い陽性反応を示し、発現強度は実験群中最も強かった。この事は、HSP は傷害を受けた細胞に対しての修復に働くとされている事から、歯根膜組織に現れた退行性変化すなわち細胞傷害の修復に関与しているものと考えられる。3 日群、1 週群では発現強度は時間の経過と共に弱くなるが、発現領域に変化はなく歯根膜全周での発現であった。この所見は病理組織学的にも、実験期間初期には退行性変化が生じていたが、HSP 27 と p-HSP 27 の発現強度が弱くなる 3 日後には歯根膜組織の退行性変化が消失していた所見と一致する。以上、メカニカルストレスを受けた歯根膜線維芽細胞の修復に HSP 27 が関与していると考えられる。

#### 【文献】

- 1) Matsuda H, Nakano K, Muraoka R, Tomoda M, Okafuji N, Kurihara S, Yamada K and Kawakami T (2010) BMPs and related factors appearing in the mouse periodontal tissues due to orthodontic mechanical stress. *J Hard Tissue Biol* **19**: 153-60.
- 2) 松田浩和, 原田寿久, 村岡理奈, 共田真紀, 岡藤範正 (2011) 歯科矯正力によりマウス歯周組織に発現する Osterix の免疫組織化学的観察. *J Hard Tissue Biol* **20**: 283-8.
- 3) 村岡理奈, 中野敬介, 松田浩和, 共田真紀, 岡藤範正, 山田一尋, 川上敏行. 実験的歯科矯正力により歯根膜組織に発現する HSP 70 の役割に関する一考察. *J Hard Tissue Biol* **20**: 275-82.