

Cytological kinetics of periodontal ligament in an
experimental occlusal trauma model
(実験的咬合性外傷による歯根膜の細胞動態)

高谷 達夫

松本歯科大学 大学院歯学独立研究科 健康増進口腔科学講座
(主指導教員：藤井 健男 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

Cytological kinetics of periodontal ligament in an
experimental occlusal trauma model

TATSUO TAKAYA

*Department of Oral Health Promotion, Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University
(Chief Academic Advisor : Professor Takeo Fujii)*

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

【目的】

外傷性咬合による歯周組織への影響については、十分な実証的研究が進展していない。そこで咬合性外傷を発症する動物実験モデルの開発により、高度な骨吸収の成因に関与すると考えられる外傷性咬合の歯根膜組織に及ぼす細胞動態を検討した。

【材料と方法】

7週齢の ddY マウス12匹および C57BL/6 マウス (GFP 骨髄移植マウス) 8匹を使用した。腹腔内麻酔を行い、手製の実験台上に仰臥位で固定し、開口状態を保持した。上顎左側第一臼歯咬合面にカーバイトバーにてガイドグループを形成後、マイクロプラススクリュウ（頭部径1.7mm, 頭部厚0.5mm, 全長3.5mm）植立し、対合する

下顎左側第一臼歯根分岐部の歯根膜を観察した。なお、対照として無処置のマウスの同部位を用いた。下顎左側第一臼歯近心から遠心方向に前頭断切片を作製し、実験開始後4日目、7日目、14日目の根分岐部歯根膜における細胞動態の経時的変化を、病理組織学的ならびに免疫組織化学的検討を行い、細胞核占有率および陽性細胞率を Photoshop によって画像解析した。実験期間中のマウスの体調は良好で、体重に大きな変動はなく全身的に良好に経過した。

【結果】

病理組織学的検討から、対照群と比較し実験4日群は、歯根膜の充血傾向、および円形の細胞核を有する細胞の密度が上昇していた。実験7日群は実験4日群と比較して、歯根膜の細胞密度は低

下していたが、歯根膜中央部における多核巨細胞の出現とセメント質および歯槽骨表面には蚕食性の吸収窩が形成されていた。実験14日群には、多核巨細胞における骨吸収窩は拡大していた。根分岐部歯根膜における細胞核占有率は、対照群と比較し実験4日群、7日群、14日群共に増加した。とくに実験4日群は有意に増加していた (Scheffe検定, $p < 0.05$)。実験7日群および実験14日群は対照群との有意差を認められなかった。免疫組織化学的検討から、Ki67陽性細胞率は、実験4日群 ($Av \pm SD : 17.2 \pm 4.1$) に対照群 ($Av \pm SD : 4.4 \pm 2.2$) と比較して有意な増加がみられ (Tukey検定, $P < 0.05$)、実験4日群と比較して低減傾向にあるものの、実験7日群 ($Av \pm SD : 14.7 \pm 2.2$) でも有意な値を示し (Tukey検定, $P < 0.05$)、実験14日群 ($Av \pm SD : 9.0 \pm 3.7$) では、有意差はない (Tukey検定, $P > 0.05$) ものの対照群と比較して増加していた。GFP細胞陽性率は、対照群 ($Av \pm SD : 8.6 \pm 1.8$) と比較して、実験7日群 ($Av \pm SD : 19.7 \pm 6.8$) で約2.3倍の値を示した。実験4日群 ($Av \pm SD : 7.7 \pm 1.6$)、14日群 ($Av \pm SD : 7.6 \pm 2.7$) では、対照群と同程度であった。

【考察】

咬合性外傷歯の共通する臨床所見は、歯の振動と動揺で、咬合時の振動、歯ぎしり時の歯の動揺は、歯周組織に過大な力が負荷されたことを意味する。マウスの下顎運動サイクルは、比較的単純であり、過重咬合時に加わる咬合圧を歯軸方向に負荷することにより、実験系を単純化することができ、染色方法が多岐にわたり分析しやすい。本研究では、飼育が比較的容易なマウスを用いて、再現性を有する実験系を確立した。過重状態を均一に設定にするために、頭部高径に規格統一性のあるマイクロプラスクリューをマウスの上顎第一臼歯咬合面に植立した。さらに実験期間中の脱離はスクリューによって認められなかった。

Ki67細胞陽性率は、実験4日群では、対照群と比較し約2倍の値であった。Ki67は、細胞周期関連核タンパク質で、増殖中の細胞において発

現が認められるが、増殖を休止している細胞には認められないため、増殖細胞を検出する際に使用される。このことから実験4日群では、外傷を受けた歯の根分岐部歯根膜に対して、活動性の細胞が多数存在することを意味しており、恒常性維持に関与すると推察できる。

さらにGFP陽性反応の所見から、GFP陽性細胞は、実験7日群で、コントロールと比較して約2倍の増加を示したが、実験14日群では、コントロール群とほぼ同値を示した。GFP骨髄移植マウスは、移植した骨髄由来細胞がどのような細胞に分化しても、GFPタンパクを有しているため、生体内追跡が可能である。骨髄移植後のマウスの歯周組織に移動する細胞の細胞種を同定する研究でGFP陽性細胞が多数移動していることが報告されており、その細胞も破骨細胞とマクロファージと同定されている。今回の実験において、GFP骨髄移植マウスによる咬合性外傷の根分岐部における歯根膜では、実験7日群で、骨髄由来細胞が増加していることがみられた。これは、歯根膜に負荷される継続的な過重咬合により、受傷部位による細胞群だけでは、組織障害へ対応できずに、骨髄由来細胞の積極的な動員を必要とする現象を誘起すると考えられる。対照群の歯根膜においてもGFP陽性細胞の存在が認められることから、外傷性咬合によるこれらの骨髄由来細胞の増殖も考えられる。

以上から、外傷性咬合により惹起される咬合性外傷の根分岐部歯根膜における受傷部位では、細胞動態の亢進を伴う経時的な歯根膜の改造現象が実験4日から誘起されることが示唆された。さらに過重咬合状態が継続する実験7日をピークに歯根膜において骨髄由来細胞の増加が認められ、その後の実験14日では対照群とほぼ同様の組織学的所見が認められた。したがって、咬合性外傷を発症する歯根膜は、その部位の細胞および骨髄由来細胞の動員により、組織恒常性の維持が図られることが示唆された。