

歯間分離後のマウス歯髄における HSP 27 の免疫組織化学的発現

齊藤 進之介

松本歯科大学 大学院歯学独立研究科 口腔健康分析学講座

Immunohistochemical expression of heat shock protein 27
in the mouse dental pulp after immediate teeth separation

SHINNOSUKE SAITO

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

【目的】

ウェッジやセパレーターを用いて即時歯間分離を行う場合、根尖部分や側枝において歯髄組織が歯周組織と交通している以上、歯周組織のみならず根管内の歯髄にも影響があるはずである。HSPs は傷害を受けた細胞に対して、防御・修復に関与し、細胞機能の制御に関与すると考えられている。今日、実験的歯間分離に伴う歯髄組織での動態やその役割については、傷害性刺激に対する調節的な細胞反応と同様にこれまでほとんど追究されていない。そこで本研究では、歯間分離時のメカニカルストレスを付与することによって起こる、歯髄細胞の変化について、実験動物であるマウスを用いて歯科保存学的歯間分離実験を行い、病理組織学的に追究するとともに、同時に発現しているであろう HSP 27 の発現について着目し免疫組織化学的に検討した。

【材料と方法】

8 週齢で、体重 35 ± 5 g の ddY 系雄性マウス計 36 匹を使用した。実験に先立ち、マウスには動物用吸入麻酔剤イソフルランと空気の混合ガス吸入による麻酔導入を行い、手製の実験台上にマウスの上半身を起こして座位の状態にて固定し、開口状態に保つために実験台の上方からマウスの上顎切歯に風糸を掛けて上顎の固定を行い、実験台

の下方からはマウスの下顎前歯にゴムを掛けて下顎を引き下げることによって下顎の固定を行った。この開口状態下にて、マウスの上顎臼歯部に歯間分離を行うためにウェッジを挿入した。ウェッジはマウスの上顎右側の第一臼歯 (M1) と第二臼歯 (M2) の間に口蓋側から挿入した。実験群はまず、歯間分離の時間を 30 分群と 3 時間群の 2 群に分け、その後の放置する時間を 0 分、3 時間、9 時間、24 時間、3 日、1 週間としそれぞれ 6 群、計 12 群に分けた。本実験において上顎第一臼歯の遠心頬側根を観察部位とした。なお、免疫組織化学的発現強度は、その DAB 発色の濃淡によって判定した。

【結果と考察】

対照群について、HSP 27 の発現は、歯髄の線維芽細胞、毛細血管内皮細胞、象牙芽細胞突起において極めて淡く発現していた。実験群の、まず歯間分離時間 30 分群について、ウェッジ除去直後では、HSP 27 の発現は象牙芽細胞層内の毛細血管の血管内皮細胞の細胞質と一部の歯髄線維芽細胞の細胞質にとどまり、対照群と大きな差はなく弱いものであった。放置時間 3 時間では、HSP 27 の発現は一部の歯髄線維芽細胞の細胞質に加え、特に象牙芽細胞層内の毛細血管の血管内皮細胞の細胞質に増え、若干強くなっていた。9 時間で

は、HSPの発現は同部位での増加に加え、特に歯髓線維芽細胞間の毛細血管の血管内皮細胞の細胞質、一部の歯髓線維芽細胞の細胞質でも増強していた。24時間では同部位にて増強があったが、9時間のものともあまり差はなかった。3日、1週間では、同部位にて発現がみられたが、順に弱まっているように観察され、1週間では対照群と差はなかった。

歯間分離時間3時間群について、ウェッジ除去直後では、HSP 27は象牙芽細胞層内、歯髓線維芽細胞周囲の毛細血管の血管内皮細胞細胞質、一部の歯髓線維芽細胞の細胞質で発現していた。放置時間3時間では、同部位にて発現が強くみられ、特に歯髓線維芽細胞の細胞質全体に染色されているように観察された。9時間では、さらに強く同部位にて発現の増強がみられ、24時間では最も強く発現していた。3日では、同部位にて発現がみられ、均一に染色されているようであったが

かなり弱まっており、1週間ではさらに弱くみられた。

歯間分離30分の実験群では歯髓の血管内皮細胞に強くHSP 27の発現があり、一部歯髓線維芽細胞にも認められた。また、この発現は24時間後に最大を呈し、以後徐々に消退し1週間では対照群と同程度にその発現は低下していた。これは、歯間分離のストレスにより、血管内皮細胞が何らかの刺激を受け、それに対する回復反応としてHSP 27が発現しているものと思われる。しかし、その発現も1週間で対照群と比べて同レベルにまで低下していたことは、この傷害刺激もさほど大きくはないことを強く示唆するものであろう。これについて、3時間分離のものとの比較でも、同様の傾向が認められ、歯間分離刺激は多少強くかかっても、約1週間後の歯髓にはHSP 27の発現による指標からみると、大きな傷害がかかっていないと言えるだろう。