

## マウス歯根膜における咬合過重負荷時の HSP47の機能的役割

三村 泰亮

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

Functional role of HSP47 in the periodontal ligament  
subjected to occlusal overload in mice

HIROAKI MIMURA

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

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

### 【緒言】

申請者は、マイクロスクリューピン応用による実験的外傷性咬合の誘起により、マウス下顎第一臼歯に対して咬合性外傷を惹起する動物実験モデルを共同研究者らと確立し、過重負荷により根分岐部歯根膜に生じる咬合性外傷の病理組織学的検討を行ってきた。これまでの先行研究から、外傷性咬合負荷4日後の歯根膜咬合性外傷部位では、歯根膜線維芽細胞が著しく増加することを明らかにした。歯根膜線維芽細胞は、歯根膜組織の主要な構成細胞であり、咬合性外傷が生じた歯根膜組織の組織応答に重要な役割を有していると考えられる。そこで本論文は、歯根膜線維芽細胞の有する多彩な機能に着目し、線維芽細胞のコラーゲン合成と深く関わる分子シャペロン機能を有するHSP47の発現推移をひとつの指標として、継続的過重負荷ならびに過重負荷解除における根分岐

部歯根膜組織の咬合性外傷性変化を病理・免疫組織学的所見に基づき解析した。

### 【材料と方法】

#### 1. 実験材料：

ddY マウス（7週齢）30匹を使用した。

#### 2. 実験方法：

ソムノペンチル腹腔内投与による全身麻酔を行い、ストレートハンドピースを用い上顎第一臼歯咬合面にラウンドバーにて穿孔した。穿孔部にマイクロプラススクリューを植立し、対合歯となる下顎第一臼歯に咬合性外傷を惹起させた。

#### 実験1) 継続的過重負荷による検討

マイクロプラススクリュー植立後、1日、4日、7日、14日における、継続する咬合負担過重による根分岐部歯根膜の組織学的変化について、病理・免疫組織学的検討を行った。なお、無処置部を対照群とした。

## 実験2) 過重負荷解除による検討

はじめにマイクロプラスクリューによる外傷性咬合負荷を4日間加え、次いでマイクロプラスクリューを除去して3日、6日、10日、30日後の咬合性外傷歯根膜部の病理、免疫組織学的検討を行った。無処置のマウスを対照群とした。

### 【結果および考察】

#### 1. 病理組織学的検討：

実験1) 対照群の歯根膜線維芽細胞は歯質から放射状に配列するかに思えたが乱雑に存在した。これは、生理的条件下での咬合力による影響と思われた。1日例は、血管拡張しており、その中に赤血球が充満しており、咬合負担過重が加わった様子が分かった。4日例の歯根膜は、ヘマトキシリンに濃染する円形の細胞核を有する細胞の密度が上昇し、歯根膜が咬合負担過重に対し細胞数を増加させることで適応することが考えられた。7日例では、4日例と比較し歯根膜線維芽細胞の密度が低下していた。さらに、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吸収窩の形成を認めた。この時点で、歯周組織の硬組織改造現象が著しく行われ始めたことが推察された。14日例の多核巨細胞を伴う硬組織吸収窩は7日例より拡大していた。

実験2) 外傷性咬合除去3日例における歯根膜は、咬合負担過重を加えた実験群に比べて著しい血管拡張は認めなかった。これは、咬合負担過重が解除され充血が減退したためと考えられた。6日例の歯根膜では、充血傾向を示す毛細血管は少なく、破骨細胞は歯槽骨付近に認められたが、3日例に比べてその数は減少していた。10日例は、歯槽骨には拡大が進んだハウシッポ窩を認め、破骨細胞数の増加所見を示した。これらの破骨細胞は、予め負荷した咬合負担過重により誘導されたものだと考えられた。30日例の歯根膜組織は対照群と同様な所見を呈し、歯根膜は生理的恒常性が

保たれる状態になったと思われた。

#### 2. 免疫組織化学的検討 (HSP47)：

実験1) 対照群は、歯根膜を構成する紡錘形の歯根膜線維芽細胞の細胞質にHSP47に弱い陽性反応があり、生理的咬合状態でもコラーゲン線維の合成が絶えず行われているのだろう。外傷性咬合負荷後1日例では、HSP47陽性反応を示す線維芽細胞は上皮付着部の付近で増加していた。これは、咬合負担過重でまず上皮付着部近傍のコラーゲン線維が損傷したことが考えられた。4日例におけるHSP47陽性反応は、対照群と比較し増強傾向を示した。また、歯槽骨付近の線維芽細胞に強い反応があり、同部位の負担が増強したものと思われた。7日例のHSP47陽性反応は4日例より更に増強を認め、また、血管内皮細胞も陽性反応が増強したことから、充血による血管内皮細胞の損傷も推測された。14日例では、他の実験群と比較して最も強い陽性反応が認められた。

実験2) 外傷性咬合除去3日例の歯槽骨表面にはHSP47陽性を示す細胞が整然と配列しており、負荷4日例における組織学的所見と類似した。6日例でも3日例と比較して陽性反応は増強傾向を示し、線維芽細胞におけるHSP47発現は咬合負担過重の解除後も続いたと推測された。10日例は6日例より著しく陽性反応を示す細胞が減少しており、HSP47の発現が緩和される状態が推察された。30日例では陽性反応を示す細胞は散在し、対照群と同様の所見を示したことから、歯根膜組織は平衡状態に推移したことが示唆された。

### 【結論】

歯根膜線維芽細胞が担う咬合性外傷部におけるコラーゲン線維損傷へ対する応答と外傷性咬合に伴う過重負荷の解除後に生じる歯根膜組織修復過程におけるHSP47の機能的役割の一端が示された。