

デンティンブリッジ形成過程における 古典的 Wnt シグナルの役割

原 弥革力

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
(主指導教員：中村 浩彰 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

The role of canonical Wnt signal in the formation process of dentin bridge

MIROKU HARA

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

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

【目的】

歯科臨床では齲蝕が歯髄深部に到達すると多くの場合は抜髄処置が施される。しかし、抜髄によって歯髄を失った歯は、破折のリスクが高くなり結果的に歯の寿命は短くなってしまふ。したがって、直接覆髄法により象牙質を効率よく修復することができれば、抜髄の適応が減少し歯髄を保存できると考えられる。一方、象牙芽細胞の分化には古典的 Wnt シグナルの重要性が明らかにされ、直接覆髄後のデンティンブリッジ形成にも Wnt シグナルが深く関与していると報告されている。しかしながら、その過程における細胞動態や Wnt リガンドの局在については不明な点も残されている。そこで、マウスの歯に直接覆髄モデルを作製し、デンティンブリッジ形成過程における古典的 Wnt シグナルに関与する因子の局在を免疫組織化学的に解析した。

【方法】

マウスの上顎第一臼歯にラウンドバーにて窩洞形成し、露髄後 MTA セメントにて直接覆髄し、グラスアイオノマーセメントにて封鎖した。処置後 1 日、4 日、7 日、14 日、28 日に上顎骨を摘出し、4 %パラホルムアルデヒド溶液にて 24 時間固定後、 μ CT にて硬組織形成の有無を確認した。その後、10%EDTA にて 4℃、2 週間脱灰し、パラフィンに包埋した。厚さ 4 μ m の切片を作製し、Wnt 3 a, Wnt10a, β -catenin の局在を免疫組織化学的に解析した。また、マクロファージのマーカーとして F 4 /80, 活性化した象牙芽細胞と修復象牙芽細胞のマーカーとして Osterix の局在を検討した。

【結果】

直接覆髄を行わない未処置歯では髄角部周辺の象牙芽細胞に Wnt 3 a, Wnt10a の陽性反応はほとんど認められなかった。また、 β -catenin に

関しても髄角部周辺の象牙芽細胞の核に陽性反応はほとんど観察されなかった。覆髄後4日、7日では覆髄部周辺の象牙芽細胞と歯髄細胞が Wnt 3 a, Wnt10a の陽性反応を示すとともに、象牙芽細胞の核と歯髄細胞の核に β -catenin 局在が認められた。覆髄後14日では覆髄部周辺に reactionary dentin が形成されており、その表面に配列した象牙芽細胞とその周辺の歯髄細胞は Wnt 3 a, Wnt10a 陽性反応を示した。また、象牙芽細胞の核とその周辺に存在する歯髄細胞の核に β -catenin 局在が認められた。さらに、露髄部周辺と歯髄中央部には異物を貪食した大型の F4/80陽性マクロファージが多数観察され、これらの細胞に Wnt10a 陽性反応が認められた。覆髄後28日では覆髄部直下にデンティンブリッジが形成されており、その表面に接した象牙芽細胞と修復象牙芽細胞に Wnt 3 a, β -catenin, Osterix の陽性反応が観察された。

【考察】

デンティンブリッジに接した象牙芽細胞および修復象牙芽細胞の核に β -catenin と Osterix 陽性反応を認めたことから、これらの細胞で Wnt シグナル伝達が生じ、デンティンブリッジ形成に関与していることが明らかになった。また、覆髄後4日、7日には覆髄部周辺の象牙芽細胞と歯髄細胞に Wnt 3 a, Wnt10a 発現がみられたことから、象牙芽細胞と歯髄細胞由来の Wnt が直接覆髄後初期における象牙芽細胞活性化と修復象牙芽細胞分化の役割を担うと考えられた。一方、直接覆髄後14日では覆髄部周辺と歯髄中央部のマクロファージも Wnt10a を発現していたことから、後期においては象牙芽細胞と歯髄細胞に加え、マクロファージ由来の Wnt10a も修復象牙芽細胞分化とデンティンブリッジ形成に関与していると示唆された。