

## 学位研究紹介

## ラット臼歯の皮下移植後に形成される歯髄腔内硬組織に関する免疫組織化学的研究

An immunohistochemical study of hard tissue formation in the pulp cavity of rat molar after transplantation into subcutaneous tissue

松本歯科大学総合歯科医学研究所・口腔解剖学第二講座

細矢明宏

Institute for Dental Science,  
Department of Oral Histology,  
Matsumoto Dental University  
Akihiro Hosoya

## 【目的】

歯髄は外部侵襲に対して修復象牙質や被蓋硬組織形成等の機能を持つ重要な組織であり、保存修復治療に際して、歯髄組織を極力保存し、その機能を効果的に賦活する処置法が必要である。そこで、これまで多種多様の歯牙修復材、覆髄剤が臨床応用されてきたが、その多くは歯髄組織に対して為害性を示し必ずしも理想的な材料とは言いがたく、より生物学的な歯髄保護材の開発が望まれている。一方、歯髄組織は潜在的に石灰化硬組織形成能を有しているとされ、歯の再植及び移植後に歯髄組織が石灰化することが知られているが、そのメカニズムについては不明な点が多い。

そこで本研究では、歯髄の石灰化機構に関する研究の一環として、ラット臼歯の皮下移植後の歯髄腔内における硬組織形成を形態学的、細胞化学的に検索した。評価には、骨及び歯に特有な非コラーゲン性タンパクであるオステオカルシン (OCN)、オステオポンチン (OPN)、骨シアロタンパク (BSP)、象牙質シアロタンパク (DSP) に対する特異抗体及び硬組織形成部位の細胞や基質において活性が認められている組織非特異的アルカリホスファターゼ (TNAP) に対する特異抗体を用いた免疫組織化学的観察を行った。

## 【材料と方法】

4週齢Wistar系ラットの上顎第一及び第二臼歯を用い

た。歯根を破折しないよう抜歯し、血塊および骨片を除去するため滅菌生理食塩水にて歯牙を洗浄後、腹部皮下に移植した。移植1, 2, 3, 4週後に屠殺し、周囲組織と共に移植歯を取り出し4%パラホルムアルデヒドにて固定、10%EDTAにて脱灰後パラフィンに包埋し、H-E染色並びに免疫組織化学的手法にて、OCN, OPN, BSP, DSP及びTNAPの局在を観察した。また、同様に処理、染色した4週齢ラットの上顎をコントロールとした。

## 【結果】

## 組織学的所見

1週後、移植歯は、新生血管に富んだ肉芽組織で囲まれていた。歯冠部歯髄組織は変性したが、歯根部では血管が根尖より進入し、根管口部まで達していた。歯根部の象牙前質表面には、扁平な細胞が接していた。根尖部では、象牙前質に接して多数の細胞を有する硬組織が歯髄腔内側に向かって形成されていた。2週後、血管が歯冠部歯髄腔へと到達するとともに、細胞を有する小腔構造の多数見られる組織学的に骨組織と類似した硬組織が島状に形成されていた(図a)。歯根部では象牙前質表面に細胞成分の乏しい硬組織が添加的に形成されており、また周囲には立方状の細胞の配列が観察された(図c)。根尖部では、1週で観察された多数の細胞を有する硬組織を取り囲むようにして、歯根部で見られた細胞成分の乏しい硬組織が連続して観察された(図b)。根分岐部では、歯根表面に新生セメント質が添加され、歯根膜様線維組織を介して新生歯槽骨の形成が観察された。3週目以降、歯髄腔内に形成された硬組織の量は著しく増加し、歯髄腔は狭窄した。

## 免疫組織化学的所見

免疫局在は、コントロールとして用いた4週齢ラットの正常組織では、骨及びセメント質はOCN, OPN, BSPがともに陽性であったのに対し、DSPは陰性だった。それに対し象牙質はOCN, OPN, BSPのいずれもわずかに局在するのみで、DSPは陽性だった。移植後に形成された歯冠部の細胞を有する小腔構造の多数見られる硬組織、根尖部の多数の細胞を有する硬組織及び歯槽骨では、OCN, OPN, BSPは強陽性反応を示したが、歯根部の細胞成分の乏しい硬組織では特異的な局在は見られなかった。それに対し、DSPは歯根部の細胞成分の乏しい硬組織では局在を示したが、他の新たに形成された硬組織では陰性だった。一方TNAPは、1週後では根尖部

及び歯根下部の象牙前質表面付近で特に強い局在を示したが、2週後では根管口部付近から歯冠部にまで広がり、3週目では歯髓腔内の軟組織全体で均一な局在が認められた。

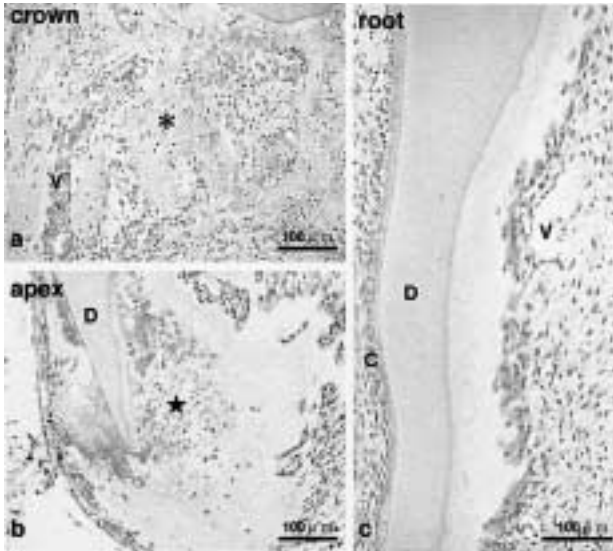


図  
皮下移植 2 週後の組織学的観察 (a, 歯冠部; b, 根尖部; c, 歯根部: H-E染色)

血管進入は歯冠部歯髓腔にまで観察され、細胞を有する小腔構造が多数見られる硬組織 (\*) が島状に形成されている (a)。歯根部では、象牙前質表面に細胞成分の乏しい硬組織が添加的に形成されており、一部には数個の細胞塊の封入が見られ、また周囲には立方状の細胞の配列が観察される (c)。根尖部では、1週で観察された多数の細胞を有する硬組織 ( ) の周囲に、歯根部で見られた細胞成分の乏しい硬組織が連続して観察される (b)。C: セメント質, D: 象牙質, V: 血管

### 【考察】

ラット臼歯の皮下移植後における歯髓腔内には、根尖部に骨又はセメント質と類似した特性を持つ硬組織が形成され、抜歯後も残存した周囲の歯根膜より遊走した細胞により形成された可能性が推測された。歯根部では象牙質と類似した特性を持つ硬組織が形成され、移植後早期の血管進入により、細胞活性の維持された象牙芽細胞または歯髓細胞から分化した象牙芽細胞様細胞により添加的に形成したものと考えられた。一方、歯冠部では、血管進入が遅れたため変性した歯髓組織において、血管再生に伴い進入した間葉系細胞により骨様の硬組織が形成されたものと考えられた。

以上より、歯髓は傷害を受けた後でも、栄養供給の回復とそれにより細胞の活性を保つことができれば、硬組織形成能を維持することが確認された。また、栄養供給が遅れ細胞活性を保つことができなかった場合でも、感染にさらされることがなければ、硬組織形成を誘導することが明らかとなった。従って、保存修復処置または歯髓処置を行う上で、歯髓を極力保存することが重要であり、さらに歯髓の再生と硬組織形成の促進を誘導する治療法の開発が必要であると考えられた。

本研究は、新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔生命科学専攻口腔健康科学講座う蝕学分野にて学位研究として行われたものである。

### 【参考文献】

Hosoya, A. Yoshiba, K. Yoshiba, N. Hoshi, K. Iwaku, M. and Ozawa, H.: An immunohistochemical study on hard tissue formation in a subcutaneously-transplanted rat molar. Bone. (in press)