

学位研究紹介

矯正力を付与されたラット臼歯における Prostaglandin I₂ 合成酵素, IP 受容体および TRPV1 の発現の変動: 免疫組織化学的検索および遺伝子発現解析 Immunohistochemical and Gene Expression Analyses of Prostaglandin I₂ Synthase, the IP Receptor, and TRPV1 following Orthodontic Force Application in Rat Molars

新潟大学歯医学総合研究科 歯科矯正学分野
大倉麻里子

Division of orthodontics, Niigata University
Graduate School of Medical and Dental Sciences
Mariko Ohkura

【目 的】

矯正歯の移動に伴い多岐にわたる歯髄反応が生じるとされている。すなわち、象牙芽細胞の空胞変性やアポトーシス、浮腫、細胞増殖、血管新生、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性の上昇、および神経ペプチド・炎症性サイトカインの産生などが報告されている。一方、矯正臨床においては、患者の多くが矯正治療期間中一時的に疼痛を訴える。この疼痛は主に歯根膜で生じる虚血や炎症などの病理学的変化に起因するが、これに加え神経ペプチドの放出や神経原性炎症などの歯髄変化も疼痛に関与すると考えられている。

PGI₂ は歯髄における主要なアラキドン酸代謝産物で、炎症や疼痛に関与する代表的生理活性物質の1つと考えられている。また、PGI₂ は特異的受容体である IP 受容体と結合したのち、transient receptor potential cation channel subfamily V member 1 (TRPV1) の感作を介して末梢痛覚受容体に関与することが報告されている¹⁾。さらに、Prostaglandin I₂ 合成酵素 (PGIS) は歯髄組織において象牙芽細胞や線維芽細胞で発現しており、急性炎症時に PGI₂ 産生が亢進することも確認されている²⁾。以上のことから、PGI₂ は歯髄組織において炎症の調節や疼痛の認識に対して重要な役割を演じていると思われる。

そこで本研究では、矯正歯の移動によって歯髄内で

PGIS の作用により PGI₂ が産生され、これが IP 受容体と結合し TRPV1 の感作を引き起こすという一連の反応が歯髄組織で誘起されるとの仮説のもと、その検証を目的として、ラット臼歯歯髄における PGIS, IP 受容体および TRPV1 のタンパク局在、および PGIS, PTGIR (IP 受容体遺伝子), TRPV1 mRNA 発現に対する矯正力付与の影響を解析した。

【方 法】

8 週齢 Wistar 系雄性ラット (n=10) を使用し、Waldo 法に準じて上顎右側第一、第二臼歯間にエラストティック片を挿入し、実験的な歯の移動を 24 時間行った。反対側同名歯を未処置歯として使用した。

組織学的解析として、灌流固定後、被験歯および未処置歯を上顎骨ごと摘出し 4 週間脱灰後、厚さ 4 μm のパラフィン切片を作製し、H-E 染色と免疫組織化学的解析を行った (n=5)。第一臼歯および第二臼歯歯冠歯髄に着目し、PGIS 局在については酵素抗体法を、IP 受容体と TRPV1 の局在解析は、neurofilament (神経マーカー) および nestin (象牙芽細胞マーカー) 抗体を併用した免疫蛍光二重染色法を行った。

遺伝子発現解析では矯正力付与 24 時間後に第一および第二臼歯を摘出後 (n=5)、mRNA 抽出と cDNA 作製を行ったのち、PGIS, PTGIR, および TRPV1 mRNA の発現変化をリアルタイム PCR 法で解析した。

【結果および考察】

IP 受容体および TRPV1 は正常歯髄において neurofilament 陽性神経線維の一部、および nestin 陽性象牙芽細胞に発現を認めた (図 1)。また PGIS mRNA, PTGIR mRNA および TRPV1 mRNA は正常歯髄と比較し被験歯髄において有意に高値を示した (図 2)。

以上の結果から、矯正力の刺激による歯髄での PGIS 発現亢進に伴う PGI₂ 産生亢進が、矯正力の刺激による歯髄組織の病態生理学的変化の誘発に関与することが示唆された。

さらに PGI₂ は感覚神経線維の IP 受容体と結合後、TRPV1 を感作し疼痛伝達に関与することから、矯正力の刺激による疼痛にこの種の経路が関与することが示唆された。また、シクロオキシゲナーゼ阻害薬による象牙質石灰化度の低下や矯正力による象牙質石灰化の亢進が報告されていることから、矯正力付与後の PGIS と IP

受容体の mRNA 発現上昇が石灰化亢進に関与することが推定された。さらに、象牙芽細胞が TRPV1 を介して象牙質の感覚受容を司る可能性が指摘されており、この種の機序が矯正力付与後の痛覚感受性亢進に関与することが示唆された。

【結 論】

ラット臼歯歯髄においては、IP 受容体が TRPV1 陽性の神経と象牙芽細胞に共発現することが明らかとなった。*PGIS*, *PTGIR*, *TRPV1* mRNA 発現は矯正力付与後に有意に上昇した。これらの所見から、矯正力付与により末梢神経および象牙芽細胞が関与する歯髄変化が生じ、これに PGI_2 -IP 受容体-TRPV1 経路が寄与していることが示唆された。

【参考文献】

- 1) Moriyama T, Higashi T, Togashi K, et al. Sensitization of TRPV1 by EP1 and IP reveals peripheral nociceptive mechanism of prostaglandins. *Mol Pain* 2005; 1: 3.

- 2) Okiji T, Morita I, Kobayashi C, et al. Arachidonic-acid metabolism in normal and experimentally-inflamed rat dental pulp. *Arch Oral Biol* 1987; 32: 723-7.

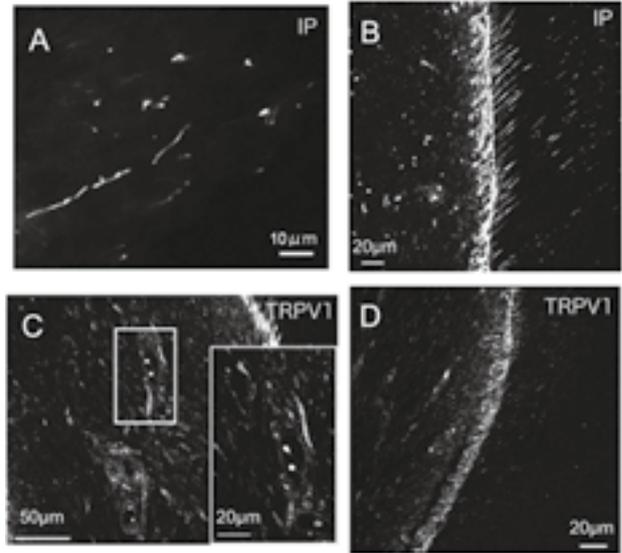


図1. 正常歯髄における IP (A,B), TRPV1 (C,D) 免疫組織化学的局在解析

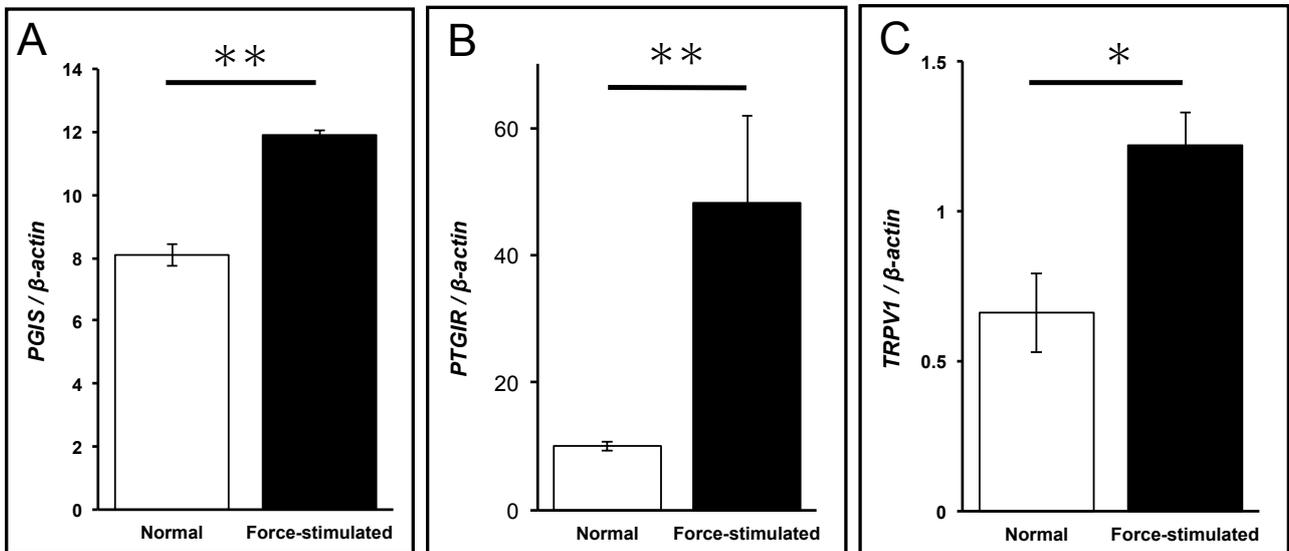


図2. リアルタイムPCR法による *PGIS* mRNA (A), *PTGIR* mRNA (B), *TRPV1* mRNA (C) 発現解析 (n=5 *P<0.05 **P<0.01 Student's t-test)