

学位研究紹介
--------

## 抗熱ショックタンパク質 (Heat-Shock Protein; HSP)-25 抗体を用いた免疫組織化学による半導体レーザーに対する象牙芽細胞の反応性に関する研究

Odontoblast responses to GaAlAs laser irradiation in rat molars: an experimental study using heat-shock protein-25- immunohistochemistry.

新潟大学大学院医歯学総合研究科  
う蝕学分野  
橋 泰昌

Division of Cariology, Niigata University Graduate School of  
Medical and Dental Sciences  
Yasuaki Tate

### 【目 的】

1964年にGoldmanらによってルビーレーザーの歯科臨床応用の可能性が報告されて以来、Argon, CO<sub>2</sub>, Nd:YAG, Er:YAG, GaAlAs半導体といった様々な歯科用レーザーが開発され、これらが歯牙硬組織に与える影響について検討されてきた。歯内療法領域では歯髄診断、象牙質知覚過敏症、覆髄等への臨床応用が試みられているが、レーザー照射が象牙質/歯髄複合体へ与える影響については依然として不明な点が多い。本研究では、象牙質知覚過敏症等への臨床応用が開始しているGaAlAs半導体レーザー照射に対する象牙質/歯髄複合体の反応の一端を明らかにするために、抗熱ショックタンパク質(Heat-Shock Protein; HSP)25抗体を用いた免疫組織化学により同レーザーに対する象牙芽細胞の反応性を検索した。

### 【材料と方法】

深麻酔下にて、8週齢Wistar系雄性ラットの右側上顎第一臼歯近心面に、GaAlAs半導体レーザーを用いて、照射出力を低出力(0.5W)・中出力(1.0W)・高出力(1.5W)に変化させ、60秒間×3回、計180秒間の接触照射を行った。照射6時間から30日後に、深麻酔下にて実験動物をアルデヒド系固定液にて灌流固定、EDTAにて脱灰後、

パラフィンならびに凍結切片を作製し、それぞれH-E染色あるいは抗HSP-25抗体を用いた免疫染色(ABC法)を施した。また、無処置の左側上顎第一臼歯を対照群とした。

### 【結 果】

半導体レーザー照射によって、歯質の肉眼的損傷は認められなかったが、歯髄におけるHSP-25免疫反応が変動を示した。すなわち、レーザー照射6時間から7日後において、低出力条件では象牙芽細胞がHSP-25強陽性を保持するとともに、照射部近傍の歯髄組織に免疫反応性の亢進が観察された。ところが同実験期間における中・高出力条件では、照射側近傍の歯冠歯髄から歯根部歯髄にかけてHSP-25免疫陽性反応の減弱もしくは消失が確認される一方、この領域の周囲の歯髄あるいは歯根膜ではHSP-25免疫活性の上昇が観察された。また、照射出力の増加に伴ってHSP-25免疫陽性反応に変化が見られる範囲が拡大する傾向がみられた。照射30日後では、各出力条件において照射側歯髄腔内に第三象牙質形成が認められたが、しばしばこれに骨様組織形成が併発していた。既存の象牙質と第三象牙質との境界にはヘマトキシリンに濃染する石灰化傷害線が認められ、その形態学的特徴から象牙質と骨様組織を容易に区別できた。二種の硬組織とも形成された場合の方が、第三象牙質のみ形成された場合より広範囲に硬組織形成が生じた。また、骨様組織を示した歯にはしばしば歯根吸収が認められた。第三象牙質形成部位にはHSP-25強陽性の象牙芽細胞が配列していたのに対し、歯髄内骨様組織周囲のHSP-25免疫陽性反応は弱いことが判明した。

### 【考 察】

抗HSP-25抗体を用いた免疫組織化学により、ラット臼歯にGaAlAs半導体レーザーを照射した際の歯髄反応、特に象牙芽細胞の反応を観察することができた。窩洞形成や歯の再植によって傷害を受けた歯髄では、早期に象牙芽細胞のHSP-25陽性反応が消失し、新たに歯髄・象牙質界面に配列した象牙芽細胞がHSP-25免疫活性を獲得することが知られている。したがってHSP-25免疫陽性反応の変化は、歯の損傷後の歯髄治癒過程における象牙芽細胞の変性/再生現象をある程度反映していると考えられる。すなわち、レーザー照射後のHSP-25陽性反応の消失は、レーザー照射による象牙芽細胞の不可逆

的变化を示唆するものであり、主としてこの変化が強度に生じた場合に骨様組織形成が生じると思われる。

一方、歯の再植後においても、歯髄に第三象牙質形成と骨様組織形成という二つの治癒過程がみられ、骨様組織形成細胞は歯周組織から遊走した細胞あるいは歯髄内の間葉細胞に由来すると推測されている。ところが本実験では歯周組織からの細胞の遊走は考えにくい。従って、レーザー照射による神経提由来細胞の死滅により骨様組織形成抑制機構が解除される結果、歯髄内に存在するある種の細胞の骨様組織形成細胞への分化が生じることが推察される。本実験では、半導体レーザー照射によって象牙質の切削なしに歯髄腔内に硬組織形成が誘導されることが明らかとなったが、骨様組織形成例ではしばしば

歯根吸収が併発しており、歯髄腔内での骨様組織形成と歯根吸収との相関が伺われた。半導体レーザーの歯科臨床応用においては、歯髄腔内に骨様組織の形成を伴わずに第三象牙質形成を誘導するような、適正照射出力を設定することが重要であると考えられた。

Tate Y, Yoshida K, Yoshida N, Iwaku M, Okiji T, Ohshima H: Odontoblast responses to Gallium-aluminium-arsenide laser irradiation in rat molars: an experimental study using heat-shock protein-25-immunohistochemistry. Eur J Oral Sci. (in press).

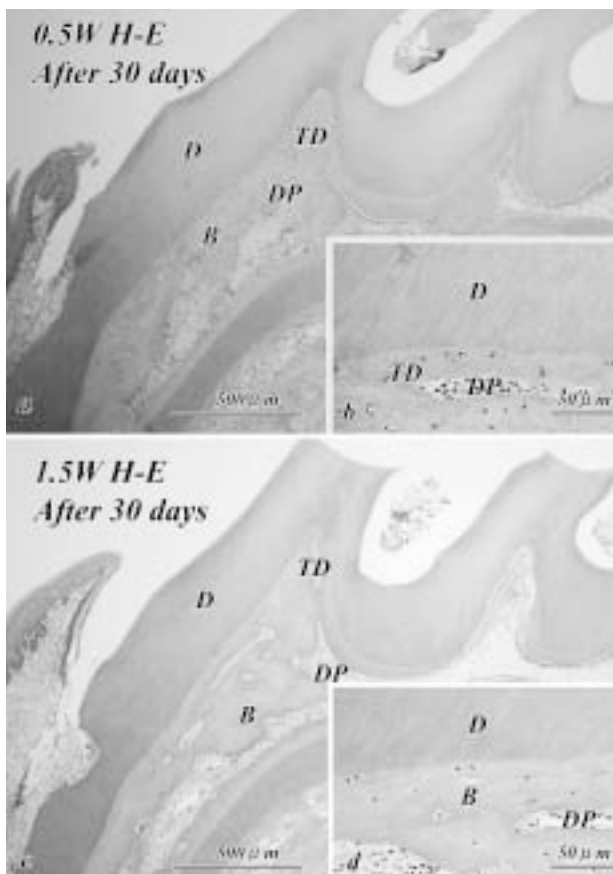


図1  
半導体レーザー照射30日後の照射側歯髄腔内硬組織形成(H-E染色)。(a,b)照射出力0.5W (c,d)照射出力1.5W。第三象牙質(TD)と骨様組織(B)の両者が形成されている。DP: 歯髄, D: 象牙質

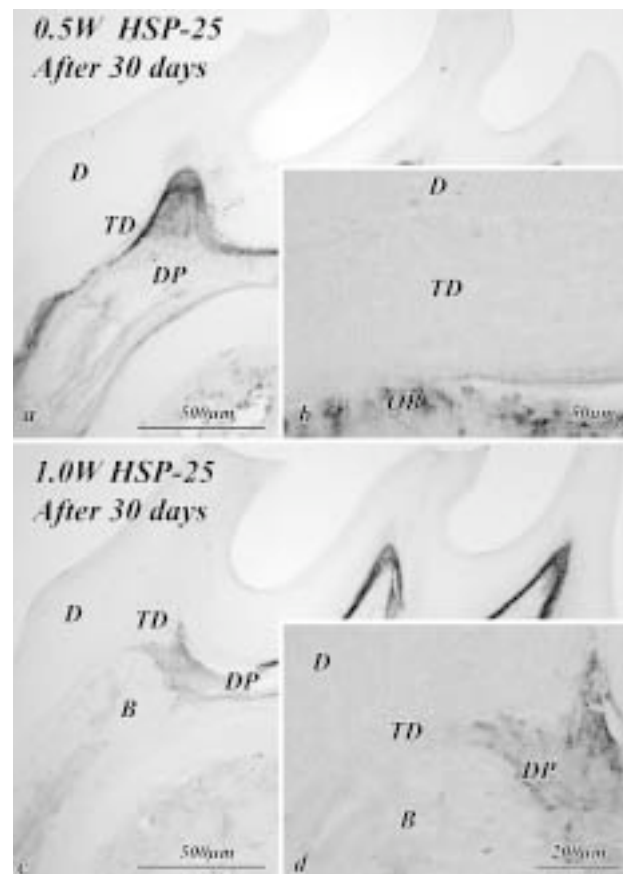


図2  
半導体レーザー照射後の照射側歯髄腔内におけるHSP-25免疫陽性反応の局在。(a,b)照射出力0.5W 第三象牙質(TD)形成部位にHSP-25強陽性の象牙芽細胞(OB)の配列がみられる。(c,d)照射出力1.0W。骨様組織(B)近傍にHSP-25陽性細胞の存在が観察される。DP: 歯髄, D: 象牙質