

学位研究紹介

グルコーストランスポーター2および4はラット臼歯の Mineral Trioxide Aggregate による断髄後の歯髄創傷治癒過程においてグルコース供給に関与する

Glucose Transporter-2 and 4 Are Involved in Glucose Supply During Pulpal Wound Healing Following Pulpotomy with Mineral Trioxide Aggregate in Rat Molars

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

遠間 愛子

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics,
Department of Oral Health Science Niigata University Graduate
School of Medical and Dental Sciences

Aiko Tohma

【目 的】

外傷や深在性カリエスによって露髄された症例では、直接覆髄剤として mineral trioxide aggregate (MTA) が使用される。MTA は封鎖性に優れ、修復象牙質形成を促進させるが、その効果の発現までに約3ヶ月の期間を必要とする。したがって、完全封鎖が期待される修復象牙質層の完成までは、細菌の感染リスクが懸念される。MTA による覆髄の成功率を高めるためには、修復象牙質を早期かつ効率的に形成させ、露髄部を堅牢に封鎖することが重要である。

グルコースは全細胞のエネルギー源として使用され、主にグルコーストランスポーター (Glut) の isoform である Glut1 から Glut4 によって細胞内に取り込まれる。中でも Glut2 は歯の形態形成や大きさの決定に重要であり、さらに Glut4 は骨芽細胞の石灰化形成に関与している。以上の知見から、MTA による直接覆髄後に展開される修復象牙質形成に Glut2 および Glut4 が関与していることが予想されるが、その機序は未だ不明である。そこで本研究では、MTA 直覆後における修復象牙質形成時のグルコース供給を Glut2 および Glut4 が担い、その治癒機構に関与していると仮説を立て、Glut2 と Glut4 の機能を解明することを目的とし、その端緒として

MTA 断髄モデルラットを用いた Glut2 と Glut4 の局在解析および遺伝子発現解析を行った。

【方 法】

本研究は新潟大学動物実験倫理委員会の承認を得て実施した (承認番号: SA 00212)。全身麻酔下で8週齢 Wistar 系雄性ラットの左側上顎第一臼歯に、MTA 断髄を行った。観察期間は1, 3, 5, 7日とした。対照群として反対側の右側上顎第一臼歯を用いた。正常歯髄および断髄後の創傷治癒過程における Glut2 および Glut4 の局在を解析するために酵素抗体法染色を、あるいは nestin (象牙芽細胞マーカー) に対する抗体による免疫蛍光二重染色も行った。さらに処置歯を用いて、*Slc2a2* (Glut2 の遺伝子)、*Slc2a4* (Glut4 の遺伝子)、および *nestin* に対する mRNA 発現量について real-time PCR を行い、正常歯髄との経時的変化を β -actin を内部標準として Dunnett's test (有意水準は1%以下) による統計学的比較解析を行った。

【結果および考察】

Glut2 および Glut4 は正常歯髄において象牙芽細胞に局在しており、平常時の象牙芽細胞にグルコースの輸送経路が存在していることが示された。処置後1日目では、創傷部位に Glut2 および Glut4 の陽性細胞は認められず、3日目にそれらの発現を歯髄細胞に認めた。5日目に修復象牙質が形成され、その直下に Glut2 および Glut4 陽性の象牙芽細胞様細胞を認め、7日目には修復象牙質直下に整列した Glut2 および Glut4 陽性の象牙芽細胞様細胞が観察された (図1A, 図2A)。Nestin を用いた免疫蛍光二重染色では、断髄5日目の修復象牙質直下において、nestin と Glut2 または Glut4 陽性の象牙芽細胞様細胞が観察された (図1B, 図2B)。断髄後の *Slc2a2*、*Slc2a4* および *nestin* の mRNA 発現レベルは対照群と比較して、3または5日目をピークに有意に上昇した (図3)。以上の結果から、MTA 断髄後に Glut2 と Glut4 によって歯髄創傷部にグルコースが輸送され、その結果、象牙芽細胞様細胞の分化や修復象牙質形成に関与している可能性が示唆された。

【結 論】

Glut2 および Glut4 は、正常歯髄では象牙芽細胞に、

MTA 断髄後の歯髄では歯髄細胞および象牙芽細胞様細胞にそれらの局在を認めた。さらに *Slc2a2*, *Slc2a4* お

よび *nestin* の mRNA 発現レベルは MTA 断髄後に有意に上昇した。

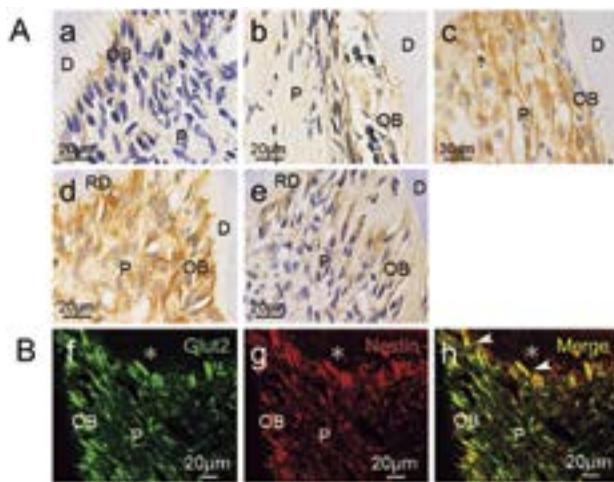


図1 ラット歯髄組織における Glut2 の局在解析.

A. 酵素抗体法を用いた Glut2 の免疫染色。(a) 正常歯髄, (b) 断髄後 1 日目, (c) 3 日目, (d) 5 日目, (e) 7 日目. B. 断髄後 5 日目における Glut2 と Nestin の免疫蛍光二重染色. OB, 象牙芽細胞; D, 象牙質; RD, 修復象牙質; P, 歯髄. *: 修復象牙質層, 矢頭: Glut2 と Nestin との蛍光二重染色部位

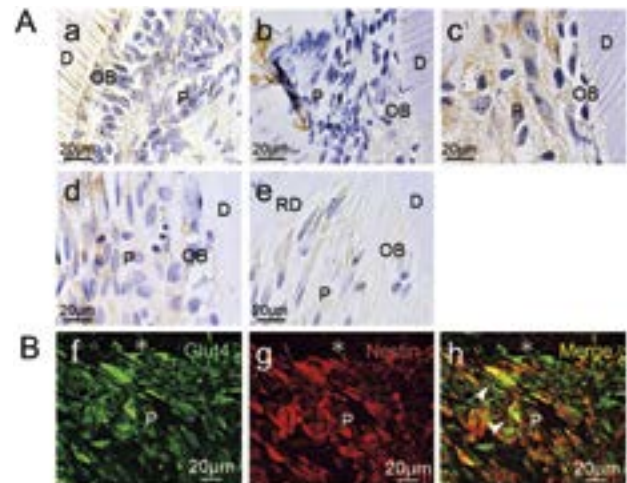


図2 ラット歯髄組織における Glut4 の局在解析.

A. 酵素抗体法を用いた Glut4 の免疫染色。(a) 正常歯髄, (b) 断髄後 1 日目, (c) 3 日目, (d) 5 日目, (e) 7 日目. B. 断髄後 5 日目における Glut4 と Nestin の免疫蛍光二重染色. OB, 象牙芽細胞; D, 象牙質; RD, 修復象牙質; P, 歯髄. *: 修復象牙質層, 矢頭: Glut4 と Nestin との蛍光二重染色部位

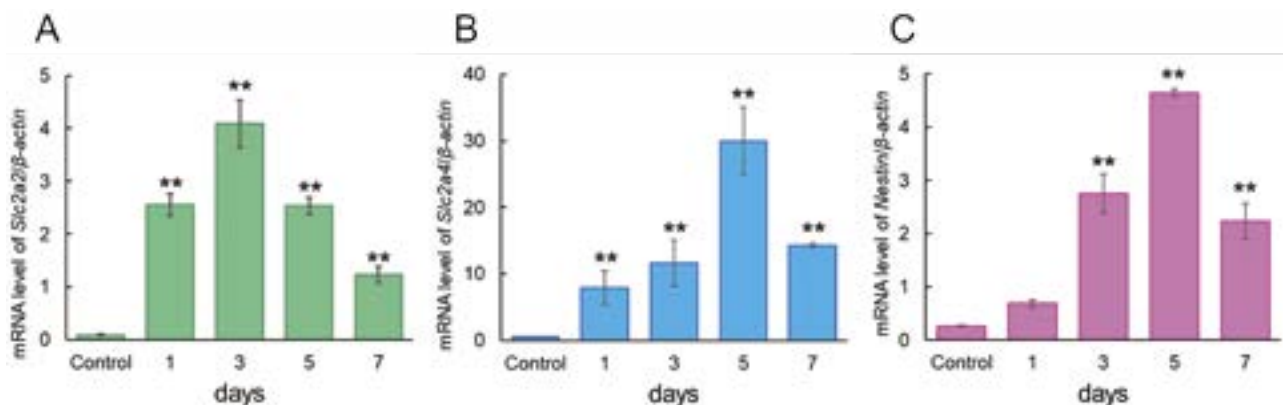


図3 Real-time PCR 法による正常歯髄および断髄後における歯髄の (A) *Slc2a2*, (B) *Slc2a4*, および (C) *Nestin* の mRNA 発現解析 (n = 6, **P < .01) .