

学位研究紹介

1. ラット臼歯発生過程における歯髄およびエナメル器における熱ショックタンパク質 (HSP)-25 と細胞増殖の免疫組織学的研究

1. An immunohistochemical study of the expression of heat-shock protein-25 and cell proliferation in the dental pulp and enamel organ during odontogenesis in rat molars

2. ラット発生歯胚における熱ショックタンパク質 (HSP)-25 発現と細胞増殖との関係

2. The relation between the expression of heat-shock protein-25 and cell proliferation in the rat developing tooth germ

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻
 摂食環境制御学講座 診断・再建学分野
 中曽根 直弘

Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science, Course of Oral Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences.
 Naohiro Nakasone

1. ラット臼歯発生過程における歯髄およびエナメル器における熱ショックタンパク質 (HSP)-25 と細胞増殖の免疫組織学的研究

【目 的】

ストレスタンパク質 heat-shock protein (HSP) は多機能タンパク質であるが、近年細胞の増殖と分化への関与が示唆されている。今回我々は、歯の発生における低分子量ストレスタンパク質 HSP-25 の機能的意義を明らかにするために、生後の歯の発生過程における HSP-25 発現と細胞増殖、分化との関係を免疫細胞化学的に検索した。

【方 法】

材料として生後1日から100日齢のWistar系ラットの上顎第一臼歯を使用した。プロモデオキシウリジン (BrdU) を腹腔内投与し分裂細胞をラベルし、2時間後にアルデヒド固定・EDTA脱灰後パラフィン切片を作製し、抗BrdU抗体および抗HSP-25抗体を用いて二重免疫染色を行った。

【結 果】

生後1日ではBrdU免疫陽性細胞はサーヴィカルループと咬頭間領域の内エナメル上皮およびそれらに隣接す

表 1

HSP-25-immunoreactivity (IR) in the epithelial and mesenchymal cells in the developing tooth

	Enamel Organ							Dental Papilla		
	DE	IEE/OEE	SR	SI	CL/HERS	PAB	AB	MC	POB	OB
Molar	Bud stage	—					—			
	Cap stage		—			—		—		
	Early bell stage		—	—	—	—		—		
	Late bell stage		—	+	—	—		—		
	Differentiation stage		—	+	—	—	+	++	+	++
	Function stage								—	++
Incisor	Apical bud	—						—		
	Proliferation stage		—	—	—	—	—	—		
	Differentiation stage		—	—	—	+ / —	—	+	+	++

+ : HSP-25-IR.

++ : Intense HSP-25-IR.

— : No HSP-25-IR.

AB : エナメル芽細胞, DE : 歯胚上皮, CL : サーヴィカルループ, HERS : ヘルトヴィッヒの上皮鞘,

IEE : 内エナメル上皮, MC : 間葉細胞, OB : 象牙芽細胞, OEE : 外エナメル上皮, PAB : 前エナメル芽細胞,

POB : 前象牙芽細胞, SI : 中間層, SR : 星状網,

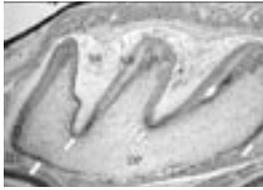


図 1. 生後 1 日臼歯における HSP-25 および BrdU 二重免疫染色像。

咬頭頂歯髄は HSP-25-IR を示す (灰矢印)。一方 BrdU 免疫陽性細胞はエナメル器, 歯髄に広く分布し, 特にサーヴィカルループおよび咬頭間領域に多く見られる (白矢印)。

AB: エナメル芽細胞, DP: 歯髄, IEE: 内エナメル上皮, SR: 星状網

る歯髄に数多く局在していた。一方, HSP-25 免疫陽性反応は象牙芽細胞およびエナメル芽細胞がすでに分化した咬頭領域に限局していた。その後生後 5 日から 30 日の間に BrdU 免疫陽性細胞は根尖側方向にシフトしたが, ヘルトヴィッヒの上皮鞘周囲に局在した。HSP-25 発現についても同じように免疫反応が根尖側にシフトしたが, BrdU と HSP-25 の免疫反応は重なることはなかった。生後 60 日から 100 日では BrdU 免疫陽性細胞は歯髄内にはほとんど認められず, HSP-25 免疫陽性反応は象牙芽細胞層にのみ局在した。

【考 察】

歯胚上皮および間葉細胞は細胞増殖終了後に HSP-25 発現を獲得し, HSP-25 が細胞増殖から分化へのスイッチとして働くことが示唆された。一方, 象牙芽細胞, エナメル芽細胞における HSP-25 の持続的発現は形成細胞の機能発現に関与すると考えられた。

2. ラット発生歯胚における熱ショックタンパク質 (HSP)-25 発現と細胞増殖との関係

【目 的】

ラット臼歯生後発育において, 象牙芽細胞とエナメル芽細胞は細胞増殖終了後にストレスタンパク質 HSP-25 免疫陽性反応を獲得する。しかしながら, 胎生期での細胞増殖と分化の関係に関するデータはない。我々は歯の形態形成過程における HSP-25 の機能的な意義を明らかにするために, ラット胎生期臼歯と生後の常生歯の切歯における HSP-25 の発現と細胞増殖活性を免疫組織化学的に比較した。

【方 法】

材料として胎生 15 日から生後 0 日齢の Wistar 系ラッ

トの上顎第一臼歯および生後 30 日齢の下顎切歯を使用した。胎生期ではアルデヒド固定・EDTA 脱灰後凍結切片を作製し, 細胞分裂マーカーである抗 Ki67 抗体および抗 HSP-25 抗体を用いて, 生後ではプロモデオキシウリジン (BrdU) を腹腔内投与し分裂細胞をラベルし, 2 時間後にアルデヒド固定・EDTA 脱灰後パラフィン切片を作製し, 抗 BrdU 抗体および抗 HSP-25 抗体を用いて二重免疫染色を行った。

【結 果】

臼歯形態形成期において多くの増殖細胞が歯胚に広く分布し, HSP-25 免疫陽性反応は細胞分裂終了後の歯胚上皮および間葉細胞に認められた。しかしながら, 歯の形態形成におけるシグナルセンターと考えられている第一および第二エナメル結節には細胞増殖, HSP-25 免疫陽性反応共に認められなかった。切歯における増殖細胞の分布パターンは, 細胞分裂を欠くエナメル結節の消失と形成端の幹細胞が存在する領域 apical bud でのまばらな分布を除いて胎生期臼歯と同一であった。また口腔粘膜上皮では, 1~2 層の発生途上のステージでは HSP-25 免疫陽性反応は認められないが, 分化が進行し重層化したステージでは基底層以外の細胞層において HSP-25 免疫陽性反応が認められた。

【考 察】

HSP-25 タンパク質は歯の形態形成において細胞増殖と分化の間のスイッチとして働くことが示唆されたが, 齧歯類において円錐型を呈する切歯や多咬頭の臼歯といった異なった歯の形態が異なる増殖細胞と非増殖細胞の調節とその分化のタイミングによって引き起こされると考えられた。

【参考文献】

- Nakasone N, Yoshie H, Ohshima H: An immunohistochemical study of the expression of heat-shock protein-25 and cell proliferation in the dental pulp and enamel organ during odontogenesis in rat molars. Arch Oral Biol 51: 378-386, 2006.
- Nakasone N, Yoshie H, Ohshima H: The relationship between the termination of cell proliferation and expression of heat-shock protein-25 in the rat developing tooth germ. Eur J Oral Sci 114: 302-309, 2006.