

氏名 楯 泰昌
学位 博士 (歯学)
学位記番号 新大院博 (歯) 第 2 号
学位授与の日付 平成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件 学位規則第 3 条第 3 項該当
博士論文名

Odontoblast Responses to GaAlAs Laser Irradiation in Rat Molars: An experimental Study Using Heat-Shock Protein (HSP)-25-Immunoreactivity

(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)

論文審査委員 主査 教授 興 地 隆 史
副査 教授 大 島 勇 人
教授 前 田 健 康

博士論文の要旨

【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、CO₂、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半導体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】抱水クロラル(350mg/kg)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(オサダライトサージ 3000)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4%パラホルムアルデヒド固定液にて灌流固定、10%EDTAにて脱灰後、パラフィン(厚さ約5μm)ならびに凍結切片(厚さ約50μm)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、骨形成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、歯髄が第三象牙質形成と骨組織形成という二つの治癒過程がみられ、骨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。

審査結果の要旨

GaAlAs 半導体レーザーは象牙質知覚過敏症における疼痛緩和等に臨床応用されているが、同レーザー照射に対する象牙質／歯髄複合体の反応はほとんど解明されていない。本研究はこの点に着目し、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ものである。

実験には Wistar 系雄性ラットを用いており、その上顎右側第一臼歯近心面に GaAlAs 半導体レーザーの接触照射 (出力 0.5・1.5 W、60 秒間×3 回、計 180 秒間) を行ったのち、6 時間から 30 日後の組織反応について、H-E 染色あるいは抗 HSP-25 抗体を用いた免疫染色 (ABC 法) を施し光学顕微鏡観察を行っている。

その結果、半導体レーザー照射は歯質に肉眼的損傷を与えないものの、歯髄における HSP-25 免疫反応が変動することが明らかにされた。すなわち、照射 6 時間から 7 日後の低出力条件では、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の免疫反応性が亢進することを確認している。また、同実験期間の中・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 免疫陽性反応が減弱もしくは消失する一方で、この領域の周囲の歯髄では HSP-25 免疫活性が上昇することを観察している。一方、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を認めるとともに、しばしばこれに骨形成が併発することを確認している。さらに、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するのにに対し、歯髄内骨組織周囲の HSP-25 免疫陽性反応は弱いことも見いだしている。

申請者は本研究で観察された HSP-25 免疫陽性反応の変化について、歯の損傷後の歯髄治癒過程における象牙芽細胞の変性ないし再生現象を反映しているものと考察している。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組織形成が生じると考えている。また、骨形成の機構については、レーザー照射による神経提由来細胞の死滅に

より骨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形成細胞への分化が生じるためと推論している。さらには、半導体レーザーを臨床応用する際、歯髄腔内に骨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の考察もなされている。

以上のように、本研究は GaAlAs 半導体レーザー照射に対する象牙芽細胞の反応性を HSP-25 免疫活性の変動を指標として十分明確にしたものであり、同レーザーの臨床応用に対する基礎的資料として価値あるものと認められる。従って、学位論文にふさわしいと判定した。