

論 文 内 容 要 旨

Progress of LPS-induced apical lesion in rat immature
mandibular molars

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

小児歯科学分野 中島 知佳子

(指 導： 木本 茂成 教授)

論文内容要旨

小児歯科臨床において、中心結節破折等を原因とした根未完成歯歯髄感染に遭遇することは少なくない。歯髄に感染を来した根未完成歯の正常に近い状態での歯根形成誘導は重要な課題である。根尖性歯周炎の原因は細菌感染であり、グラム陰性菌菌体由来の lipopolysaccharide (LPS) が刺激となりサイトカインを産生させることが知られているが、LPS を用いた根未完成歯にける歯髄感染後の治癒過程に関する報告は少ない。炎症治癒にはマクロファージが M1 から M2 へ変化し、M2 マクロファージにより各種炎症性サイトカインが産生され、血管新生を促進するとされている。本研究では、根尖閉鎖を誘導する方法の確立を目標として、根未完成歯の歯髄に直接 LPS を作用させて根尖歯周組織に炎症を惹起し、根尖歯周組織の状態変化を観察することで、根尖性歯周炎の治癒過程に関与する因子を検索した。

生後 6 週齢 Wistar 系ラット(雄) に全身麻酔後、自作処置台に固定し、ラバーダム防湿下にて下顎右側第一臼歯を露髄させた。露髄部を洗浄後、根管内に Pg-LPS (処置群) または LPS フリー液 (対照群) を $0.6\mu\text{l}$ ($1.0\mu\text{g}/\mu\text{l}$) 注入し、セメントで仮封した。処置の 2 週間後、下顎右側第一臼歯根尖部から組織を採取し、抗体アレイにてサイトカイン等のタンパク質相対発現量を比較した。処置 1、2 週間後に下顎骨を摘出し、 μCT 撮影を行った。川本法により下顎臼歯根尖部の非脱灰凍結連続切片を作製し、HE 染色、TRACP-5b/ALP 活性染色、各種抗体を用いた免疫染色を行った。本研究は本学の実験動物倫理委員会の承認 (#21-014) を得て実施した。

その結果、LPS のみを直接ラット根未完成歯根尖部に作用させ、露髄後放置する方法と比較して定量的な LPS 注入の効果を検索することが可能となった。抗体アレイの結果、硬組織誘導に関与するとされる Smad3 や $\text{ER}\alpha$ 、ILK、IL-4 等が増加し、炎症性サイトカインである TNF のレセプター、TNF-R1 は減少した。 μCT 撮影により、処置群では根尖部透過像の広がり認め、特に処置 2 週間後では対象群と比較して根尖部透過像体積は有意に増加していた。TRACP-5b/ALP 活性染色の結果、処置 2 週間後では ALP 陽性細胞と TRACP-5b 陽性細胞が歯槽骨の同一部位で認められ、対象群では処置群と比較して ALP 陽性細胞が TRACP-5b 陽性細胞より多く認められた。また、免疫染色の結果、CD68 は処置 1 週間後で強い発現を示し、その後低下した。CD163 は処置 2 週間後でより強い発現を示した。M2 マクロファージへの分極を誘導する IL-4、血管新生マーカーである VEGF/CD34 は、対象群と比較して処置 1 週間後でより強い発現を示した。以上のことから、処置 2 週間後にかけて、歯槽骨破壊の進行と血管新生、M2 マクロファージへの極性変化が認められた。炎症治癒過程においてマクロファージの分極を生じていることが推察されるため、本研究で発現の増加したサイトカインが治癒の因子になることが示唆された。