

研究者：中村 侑子（所属：日本歯科大学 大学院 生命歯学研究科）

研究題目：抗腫瘍薬シクロフォスファミドがマウスの歯周組織におよぼす影響

目的：

本研究の目的は、小児がん治療で用いる抗腫瘍薬シクロフォスファミドが形成期の歯根伸長および歯周組織に及ぼす影響を明らかにすることである。

対象および方法：

生後12日齢のICRマウスを用い、対照群は生理食塩水を投与し、実験群にはシクロフォスファミド〔エンドキサン[®]、塩野義製薬（株）〕100mg/kgを腹腔内投与した。その後、生後14、16、20、24、27日齢まで、各日齢4匹ずつ飼育した後、4%パラホルムアルデヒド固定液を用いて灌流固定し下顎骨を摘出した。各日齢において両側下顎を分離摘出し、これらの摘出材料から骨表面に付着した軟組織を注意深く剥離した後、左側を μ CT撮影用、右側を薄切標本作製のための試料とした。観察対象は下顎第一臼歯とした。下顎第一臼歯歯根の三次元的形態観察するために、第一臼歯を中心として μ CT装置（Elescan II、日鉄エレクトクス社、福岡）を用いて撮影した。その後デジタルデータを得るために、三次元構築は、画像解析ソフトTRI/3D-BON（ラトックシステムエンジニアリング、東京）を用いて断層画像の再構成を行った。また反対側の試料をEDTAで脱灰し、通法に従って厚さ4 μ mのパラフィン切片を作製した。H-E染色および上皮の特異抗体であるサイトケラチン免疫染色を施し、光学顕微鏡（FSX100 OLYMPUS）にて観察を行った。

結果および考察：

μ CT撮影から得られた16日齢および27日齢の下顎第一臼歯三次元立体構築像を図1に示す。シクロフォスファミド投与後の歯根形態は、16日齢の対照群と実験群ではほとんど差は認められなかった。一方27日齢になると、実験群の歯根長は対照群に比べ明らかに短くなっていた。この結果から、シクロフォスファミドによって歯根形成の抑制が起こると考えられた。

次に、各日齢の下顎第一臼歯のHE染色像を図2に示す。対照群では24日齢前後まで歯根伸長が継続されていたが、実験群では対照群より早期に歯根形成が停止しており、歯根長が短くなっていた。各日齢で対照群の象牙芽細胞は、象牙前質に向かい密な細胞層を形成し、核は歯髓側に規則正しく整列していた。一方、実験群では16日齢で象牙芽細胞の配列が乱れ、疎になり、細胞質は狭窄し始めていた。また、実験群の歯根膜腔は拡大し、歯根膜線維の減少などは対照群に比べ疎となっていた。セメント質形成は早期形成開始し、対照群では24日齢でわずかに形成されていたが、実験群では24日齢で対照群より多く形成が認められ、槽間中隔の歯槽骨量が対照群に比べ少なかった。さらに対照群は16日齢で萌出していたが、実験群は萌出開始の遅延傾向が認められた。以上より、シクロフォスファミド投与による歯周組織の変化が示唆された。

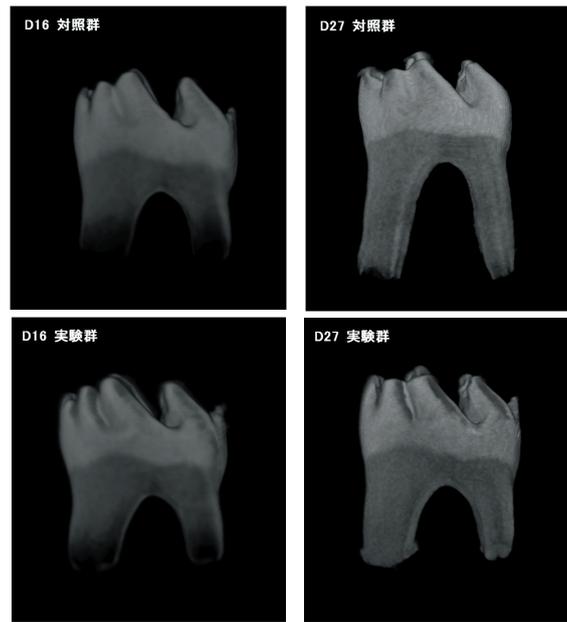


図1 下顎第一臼歯三次元立体構築像

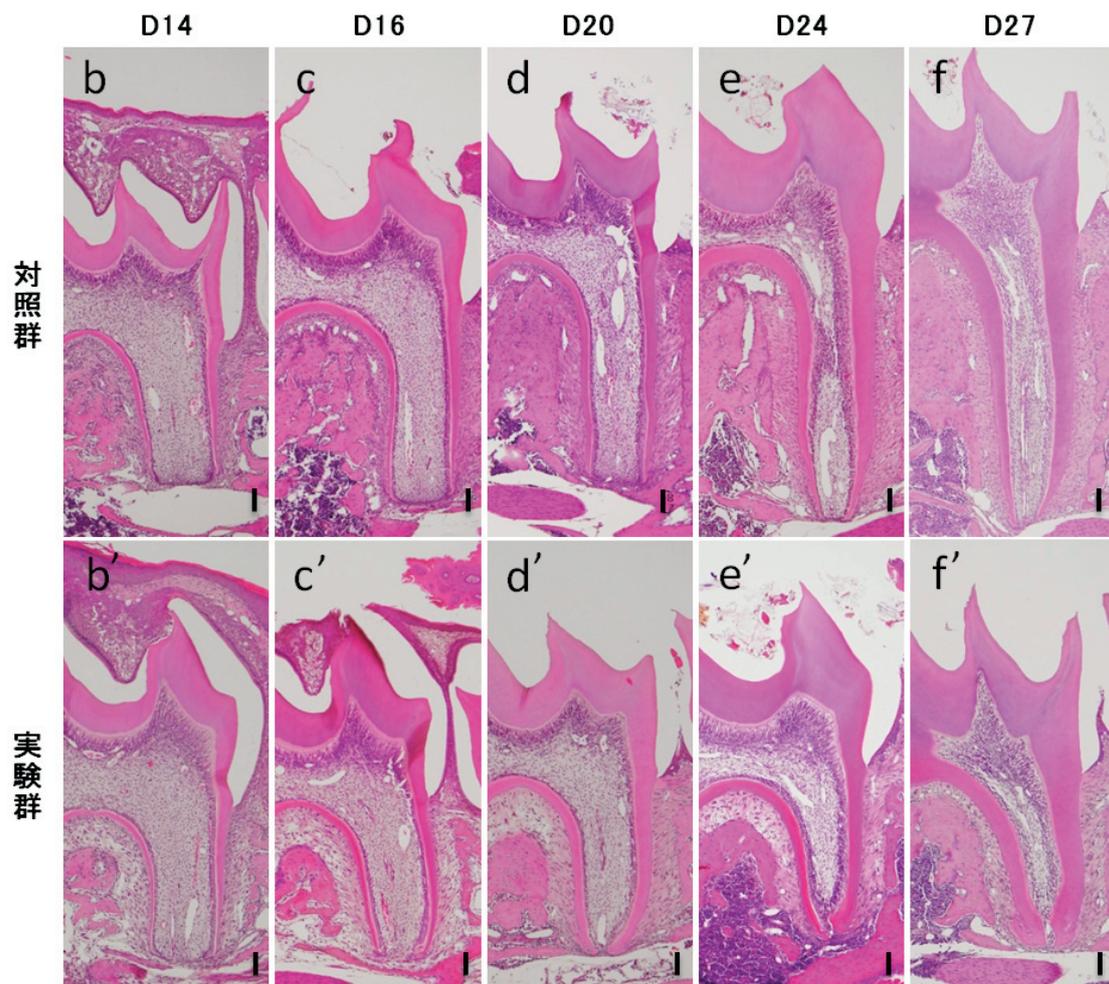


図2 下顎第一臼歯遠心根矢状断 HE 染色像の経日的変化 bar = 100 μ m

さらに、歯根形成時に歯根伸長や形態の決定に重要な働きをしているヘルトウィッヒ上皮鞘の変化を調べた。各日齢の第一臼歯遠心根根尖部のサイトケラチン免疫染色像を図3に示す。根尖部では、歯髄間葉細胞と象牙前質に接する領域の間にサイトケラチン陽性細胞の連続したシート構造が保持されていた。これまでの報告から、この構造を示すサイトケラチン陽性細胞群はヘルトウィッヒ上皮鞘と考えられる。対照群は日齢が上がるに従い、ヘルトウィッヒ上皮鞘は徐々に長さが短くなっていた。一方、実験群では14日齢でヘルトウィッヒ上皮鞘の内外2層構造が不明瞭となっていた。16日齢ではこのシート状構造の区別ができなくなっており、20日齢では消失し、以降は観察できなかった。また、ヘルトウィッヒ上皮鞘を構成する細胞は、実験群が対照群に比較して早期にその形態が萎縮・変形し、消失しており、これらはシクロフォスファミドによるヘルトウィッヒ上皮鞘の形態変化および早期消失が起こるために歯根形成が抑制されると考えられた。

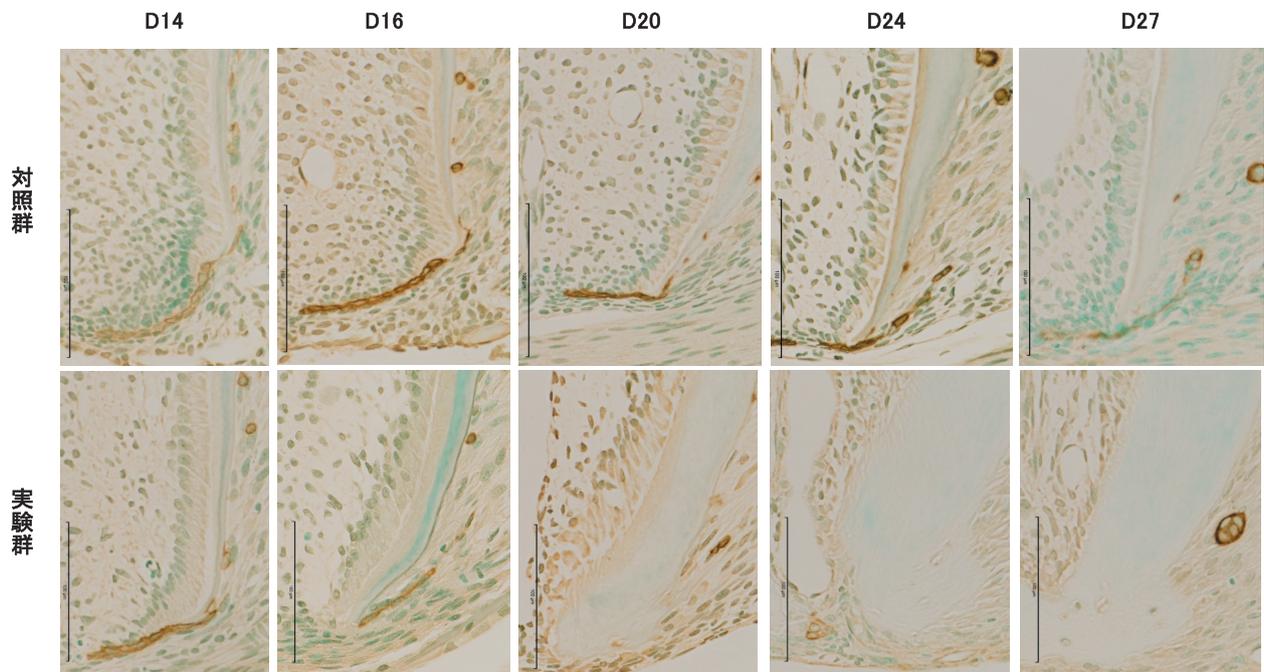


図3 下顎第一臼歯遠心根矢状断サイトケラチン染色によるヘルトウィッヒ上皮鞘の経日的変化 bar=100 μ m

以上より、成長期マウスへのシクロフォスファミドの投与は、ヘルトウィッヒ上皮鞘の形態変化および早期喪失を引き起し歯根形成に対して抑制的に作用するだけでなく、歯周組織の構築へも影響を与え、その後の歯の萌出遅延の誘因となることが示唆された。

成果発表：

本論文の要旨の一部は第50回日本小児歯科学会大会（平成24年5月12日、東京）、第27回日本小児歯科学会関東地方会（平成24年10月21日、東京）において発表した。