



Title	マウス局所および全身予備加温による生体防御効果-口腔局所予備加温による舌熱傷の防御と全身予備加温による放射線障害の防御-
Author(s)	伊藤, 要子; 一本木, 真也; 中野, 雅則 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 2005, 65(3), p. 255-262
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19396
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

マウス局所および全身予備加温による生体防御効果 —口腔局所予備加温による舌熱傷の防御と 全身予備加温による放射線障害の防御—

伊藤 要子^{1), 2)} 一本木真也³⁾ 中野 雅則⁴⁾
倉部 輝久²⁾ 風岡 宜曉³⁾ 石口 恒男²⁾

1) 愛知医科大学医学部附属核医学センター 2) 愛知医科大学医学部放射線医学講座
3) 同歯科口腔外科 4) 同内科学講座(血液内科)

Bioprotection by Local and Whole-body Preheating —Bioprotection of damage to mice tongue from burning by local preheating of oral cavity and of radiation damage of small intestine from whole-body preheating

Youko H Itoh^{1), 2)}, Shinya Ippongi³⁾,
Masanori Nakano⁴⁾, Teruhisa Kurabe²⁾,
Yoshiaki Kazaoka³⁾, and Tsuneo Ishiguchi²⁾

We have reported the cytoprotective effects of HSP 70 on various stress damage induced by mild heating. In this study, we examined the cytoprotective effects of HSP 70 induced by the local preheating of the oral cavity of mice at 42°C for 30 min, and the following results (i-4) were obtained. We also examined the cytoprotective effects against radiation injury by whole-body preheating at 41.3-41.6°C for 30 min (5-6).
1) The concentration of HSP 70 in lymphocytes was increased 2 days after preheating, but not significantly.
2) The concentration of HSP 70 in masseter muscle was significantly increased 2 days after preheating.
3) Under non-heat stress (control), tongue muscle was strongly stained with immunoblotting of HSP 72 antibody, an antibody of induced-type HSP 70.
4) Tongue damage and weight loss of the mice in the pre-heating group, whose tongues were burned, were less than in the control group. These results showed that HSP 70 induced by local preheating of the oral cavity protected against tongue damage from burning.
5) Radiation injury of the small intestine on HE stain of whole-body radiated mice was obviously reduced by whole-body preheating.
6) Decrease of the ratio of the villus length to the crypt of whole body-irradiated mice was significantly improved by whole-body preheating. From these results, it was concluded that local and whole-body preheating were useful for cytoprotection from stressful damage.

Research Code No.: 401.9

Key words: Heat shock protein (HSP 70), Preheating,
Cytoprotection, Tongue, Radiation injury

Received Mar. 26, 2004; revision accepted Jan. 22, 2005

- 1) Radioisotope Research Center, Aichi Medical University
- 2) Department of Radiology, Aichi Medical University
- 3) Department of Oral & Maxillofacial Surgery, Aichi Medical University
- 4) Department of Internal Medicine, Division of Hematology, Aichi Medical University

別刷請求先
〒480-1195 愛知県愛知郡長久手町大字岩作字雁又21
愛知医科大学医学部附属核医学センター
伊藤 要子

緒 言

細胞は、さまざまなストレスによりHeat shock protein (HSP)を誘導し、そのストレスによる傷害を修復する防御作用を有している¹⁾。HSPの中でもHSP 70は最も良く知られ、多くの研究がなされている。温熱ストレスによりHSP 70が誘導されることとは広く知られており²⁾⁻⁴⁾、特に、癌の温熱療法の分野においては、温熱耐性の原因物質として研究されてきた^{5), 6)}。

HSP 70には、さまざまなストレスによって誘導され主として細胞修復に関与する誘導型のHSP 72と、細胞内に常在しており、蛋白合成における蛋白の折り畳み、蛋白の細胞内輸送、不要蛋白の分解の補助など分子シャペロンとして作用するHSC 73がある^{7), 8)}。

われわれは、従来より癌の温熱療法で用いる、細胞致死温度である43°Cより低い温度で、細胞をほとんど損傷させることなく温熱ストレスを与え、HSP 70を誘導させるマイルド加温療法による生体防御作用を検討し報告してきた⁹⁾⁻¹³⁾。特に、あらかじめこのマイルド加温で加温しHSP 70を誘導させておき、来るべき傷害性ストレスによる組織損傷を防御するとともに、その回復を促進させるマイルド予備加温療法を提倡している。

一方、口腔は消化器の入り口として温熱、浸透圧、酸・塩基などの物理的ストレス、また疲労、細菌感染や炎症などによる生理的ストレス、そして精神的ストレスなどさまざまなストレスを受ける器官(組織)である。そこで、あらかじめ口腔内を予備加温することによる、口腔内の傷害性ストレスの防御効果、すなわち口腔局所予備加温療法の検討のため、本研究では、舌の熱傷に対する口腔局所予備加温による防御効果を検討した。

さらに、全身予備加温療法による生体防御効果を検討するため、マウス全身照射による小腸の放射線障害の防御効果を検討した。

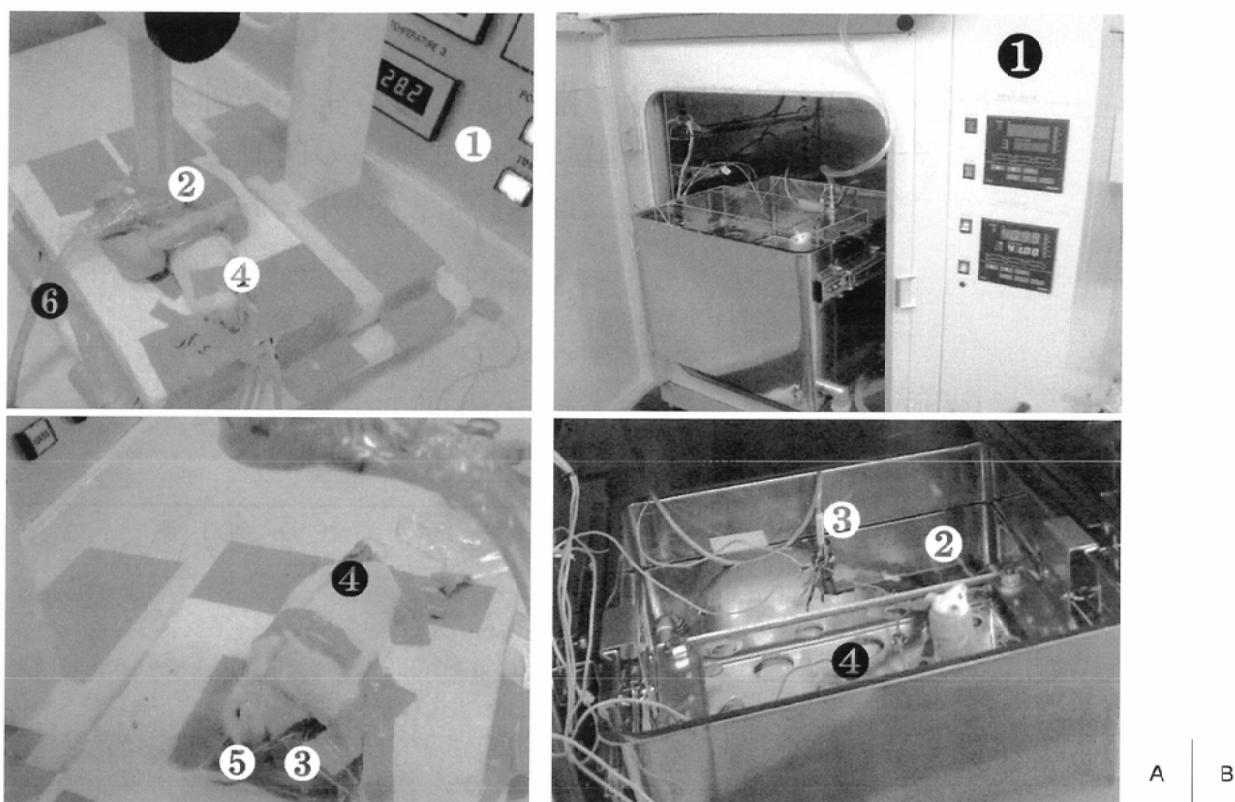


Fig. 1 Heating apparatuses.

A: RF heating. ①RF control system, ②upper electrode, ③under electrode, ④temperature sensor (masseter muscle),
⑤gel pack, ⑥current of water.

B: Water incubator. ①water tank, ②mouse, ③temperature sensor (water), ④temperature sensor (rectum).

実験材料および方法

1. 口腔局所予備加温

1) 口腔局所の加温方法

実験動物は、雄のddY、7週齢マウスを用い、ペントバルビタール（ネンブタール；大日本製薬株式会社）を腹腔内に50mg/kg投与して麻酔し、電極が接する頬部を剃毛した。

口腔局所加温は、動物用サーモトロンRF（山本ビニタ株式会社）を用い、直径30mmの電極を使用し、RF出力10Wで電極板への水の還流を行いつつ実施した。下部電極の上に37°Cに加温したゲルパック（71×49mm）（SONO JERRY [H]；東芝医療用品株式会社）を置き、ゲルパック上に頬部が加温できるようマウスを側臥位に固定した。剃毛した頬部に37°Cに加温したゲルを塗布し、さらに同ゲルパックをのせ、その上に上部電極を設置した（Fig. 1）。

温度は頬部皮膚表面、頬部皮下、咬筋、頬粘膜、舌について測定した。温度センサーは、咬筋については筋体内2.0～2.5mmに設置、口腔粘膜については第一臼歯相当部の粘膜表面から0.5～1.0mmに設置、舌については舌背中央の舌体内0.5mmに設置した。設定温度は、咬筋を基準に42°Cに設定し30分間加温した。なお、予備実験で直腸温も測定したが、今回の口腔局所加温では、加温時間中の直腸温の有意な変化を認めなかった。

口腔局所加温による末梢血リンパ球、頸骨周囲組織にお

けるHSP 70の発現を検討するために、マウス口腔局所の咬筋を基準に42°C、30分間加温した後、1, 2, 4, 7日後に採血および舌、咬筋、口腔粘膜、耳下腺、頸下腺を摘出し、HSP 70を蛋白量と免疫組織染色で検出した。

2) 舌熱傷の作成

予備加温2日後に、ネンブタールでマウスを麻酔し、マウスの舌をピンセットで口腔内から引き出したのち、マウス用胃ゾンデの先端の球状部をガスバーナーで灼熱し、マウス舌に垂直にあて熱傷させた。マウスに熱傷を作成するに際し、術者にはマウスの群名を知らせず、ランダムに熱傷を作成した。予備加温による防御効果は、口腔局所を予備加温して2日後、マウスの舌に熱傷を作成し、舌の形態・病理変化と体重減少から評価した。

3) HSP 70の測定¹⁴⁾

① 血液検体からのHSP 70測定

採取した血液にPBSを加え2倍希釈し、リンパ球分画液（セパレートL；武藤化学株式会社）を用いてリンパ球分画液を採取後、0.5% SDS溶液で溶解させ、蛋白量をBCA法（BCAkit; PIERCE Co.）で測定とともに、われわれの開発したELISA法¹⁴⁾でHSP 70を定量し、リンパ球分画の蛋白量に対するHSP 70量を測定した。

② 組織のHSP 70測定

副腎、下垂体は全量、舌、咬筋、口腔粘膜、耳下腺、頸下腺については約50mgにその10倍量の0.5% SDSを加え、

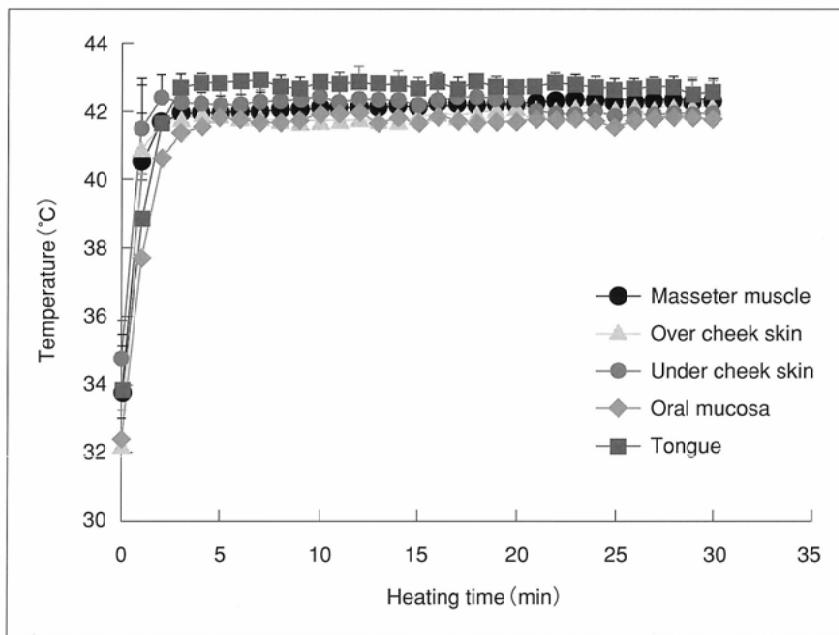


Fig. 2 Changes in temperature of oral tissues caused by heating of oral cavity. Temperatures of masseter muscle, over-cheek skin, under-cheek skin, oral mucosa, and tongue were measured under heating of oral cavity at 42°C for 30 min.

ホモゲナイザー(PHYSCOTRON; マイクロテック・ニチオン株式会社)で粉碎した後、10,000rpmで10分間遠心し、その上清について、ELISA法によるHSP 70の定量を行い、蛋白量に対するHSP 70の量で算出した。

4) 細胞のHE染色およびHSP 70の免疫組織染色

解剖時に舌、咬筋の一部をホルマリン液に固定しパラフィン包埋後、2~5μmの薄切切片とし、HE染色とHSP 70の免疫組織染色を行った。HSP 70の免疫組織染色については脱パラフィンを行い、過酸化水素でブロッキングした。一次抗体として、ストレスで誘導される誘導型のHSP 72に対してHSP 70(K-20; Santa Cruz Biotechnology, Inc.)を反応させ、二次抗体としてヒストファイン(シンプルスティンラットMAX-PO(M); 株式会社ニチレイ)を作用させ、DAB発色させた後、メチル緑で核染色した。

2. 全身予備加温

1) 全身加温の方法

マウス(ddy, 雄, 7週齢)を未処置の対照群、X線照射の照射群、全身予備加温2日後照射の全身予備加温2日後照射群、全身予備加温4日後照射の全身予備加温4日後照射群の4群に分け、各群8匹を使用した。全身予備加温群については、ネンブタール麻酔後、直腸に温度センサーを挿入し、頭部のみを水面上に出し全身を浸漬し、高精度恒温加温装置(株式会社日本厚生科学研究所)で加温した。水温、マウス直腸温の変化をモニターしながら、直腸温を41.3~41.6°Cに維持し、30分間加温した(Fig. 1)。

2) 全身照射の方法

照射群、予備加温2日または4日後照射群のマウスをHITEX HW-100(ハイテックス株式会社)を使用し、X線

14Gy(0.28Gy/min)を全身照射した。

3) 小腸放射線障害の評価法

① 小腸絨毛/腸陰窩の長さ比

X線を全身照射した2日後にマウスを解剖し、摘出した小腸のHE染色像から、小腸絨毛の長さと腸陰窩の長さを顕微鏡下で測定し、小腸絨毛/腸陰窩の長さ比を算出した。測定に際しては、各群とも小腸の1断面において、小腸絨毛頂部から腸陰窩底部まで連続しているものに限定した。

なお、本実験は愛知医科大学動物実験委員会の承認を得てなされた。

結 果

1. マウス口腔局所予備加温による舌熱傷の防御効果

1) 口腔局所マイルド加温における顎骨周囲組織の温度変化
咬筋穿刺温度センサーを42°Cに設定し、口腔内を42°Cで30分加温したときの顎骨周囲組織(咬筋、口腔粘膜、頬皮膚上部、頬皮膚下部、口腔粘膜、舌)の温度変化をFig. 2に示した。咬筋温度は、加温2分で41.7°C、3分で42.0°Cとなり、5分後には全顎骨周囲組織ともほぼ一定値に安定した。また、Fig. 2から明らかな如く、温度が安定した5分から30分間の加温期間中、各組織とも一定温度を維持し、安定した温度を示した。加温6~30分の各組織の平均温度は、咬筋42.2 ± 0.1°C、頬皮膚上部42.0 ± 0.2°C、頬皮膚下部42.2 ± 0.2°C、口腔粘膜41.8 ± 0.1°C、舌42.7 ± 0.1°Cであり、咬筋の温度に対し、頬皮膚上部、口腔粘膜は有意に低く($p < 0.01$)、舌は有意に高い($p < 0.01$)温度を示した。頬皮膚下部は有意な差を認めなかった。

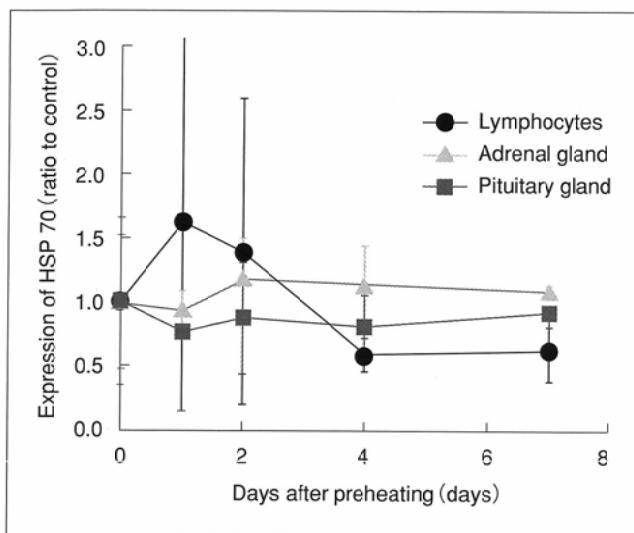


Fig. 3 Expression of HSP 70 in lymphocytes, adrenal gland, and pituitary gland after local heating of the oral cavity of mice. Mice were heated locally on the oral cavity. Expression of HSP 70 in lymphocytes, adrenal gland, and pituitary gland was measured 1, 2, 4, and 7 days after heating.

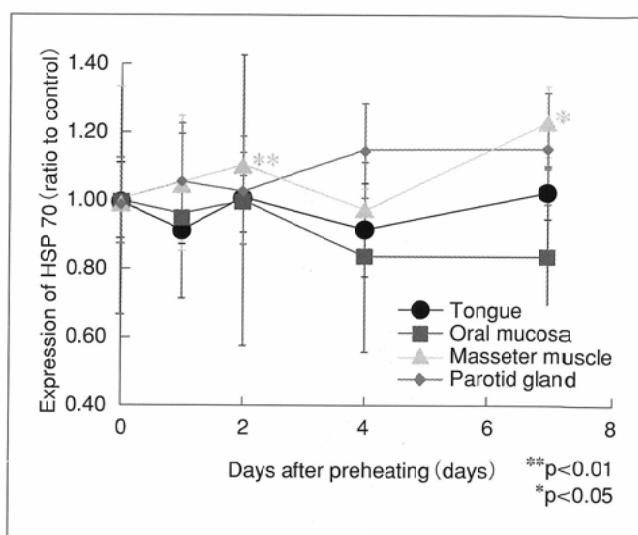


Fig. 4 Expression of HSP 70 in tongue, oral mucosa, masseter muscle, and parotid gland after local heating of oral cavity. Mice were heated locally on the oral cavity. Expression of HSP 70 in tongue, oral mucosa, masseter muscle, and parotid gland was measured 1, 2, 4, and 7 days after heating. **p<0.01
*p<0.05

2) 口腔局所マイルド加温によるリンパ球、副腎および下垂体におけるHSP 70の発現

口腔内局所を42°Cで30分加温し、1, 2, 4, 7日後の末梢血中リンパ球分画のHSP 70の発現と、ストレス調節応答組織である副腎、下垂体のHSP 70の発現を、加温前の値を基準としてその比で表示した(Fig. 3)。リンパ球では、加温1, 2日にHSP 70の増加傾向を認めたが、HSP 70が増加したマウスと増加しなかったマウスの個体差が大きく(標準偏差が大きい)，有意差は認められなかった。副腎、下垂体においても有意なHSP 70の発現を認めなかった。

3) 口腔局所マイルド加温による顎骨周囲組織におけるHSP 70の発現

口腔局所42°C加温における、舌、口腔粘膜、咬筋、耳下腺の顎下周囲組織のHSP 70の発現を、加温前のHSP 70発現を基準にして、経時的(1, 2, 4, 7日後)にFig. 4に示した。舌は、加温後もほとんど変化がなかったが、咬筋は加温2日後有意なHSP 70の発現増加を示し、4日後回復し、7日後また増加を認めた。口腔粘膜、耳下腺については、著明な変化を認めなかった。

4) 口腔局所マイルド加温による舌および咬筋の免疫組織染色によるHSP 70の経時変化

口腔内局所42°C加温による舌および咬筋組織におけるストレス誘導型HSP 70の発現を、免疫組織染色で検出し、Fig. 5に示した。興味あることに、上段の舌の誘導型HSP 72に対する免疫組織像では、無処置の対照群では加温ストレスをしていないにもかかわらず、加温1日後とほとんど染色性の程度は変わらず、強い発現を認めた。加温2, 4日後はさらに染色性は強くなったものの、著明な差を認めなかった。これに対し、咬筋の誘導型HSP 72に対する免疫組織染色では、対照ではほとんど染色されておらず、加温2, 4日

後に染色性は強くなり、7日後には回復していた。

5) 口腔局所マイルド予備加温による舌熱傷に対する生体防御効果

①マウス舌熱傷によるHE像

口腔局所を42°Cで30分予備加温し2日後、マウスを麻酔し舌を灼熱したゾンデを用いて熱傷を作成した。その2日後の舌のHE染色像をFig. 6に示した。

最下段の対照群(正常舌)に比し、非予備加温群、予備加温群ともに写真上部(舌背)に熱傷跡が認められたが、予備加温群では明らかにその傷害の程度は軽度であった。非予備加温群矢印(N)および予備加温群矢印(H)の強拡像($\times 400$ 倍)から、舌の筋組織の損傷を比較すると、非予備加温群では、熱傷を起こさせた舌上部から、かなりの深部まで筋細胞が傷害を受けていたのに対し、予備加温群の舌深部の強拡像は対照群のそれと類似しており、傷害は軽度で深部にまで及んでいなかった。

②予備加温によるマウス舌熱傷マウスの体重変化

非予備加温群、予備加温群のマウスの舌熱傷2日後の体重変化をTable 1に示した。非予備加温群の体重減少は、 $6.5 \pm 0.2\text{g}$ に対し、予備加温群のそれは $5.6 \pm 0.5\text{g}$ と有意($p < 0.01$)に低下していた。また、これらの体重減少を舌熱傷の前の体重に対する減少率で比較しても、非予備加温群の体重減少率17.7%に対し、予備加温群のそれは16.0%と有意($p < 0.05$)に低下しており、予備加温は舌熱傷による体重減少を有意に防御していた。

2. マウス全身予備加温による小腸放射線障害の防御効果

1) 小腸放射線障害のHE像

Fig. 7に無処置群、照射群、全身予備加温2日後照射群、全身予備加温4日後照射群の4群の照射2日後的小腸HE

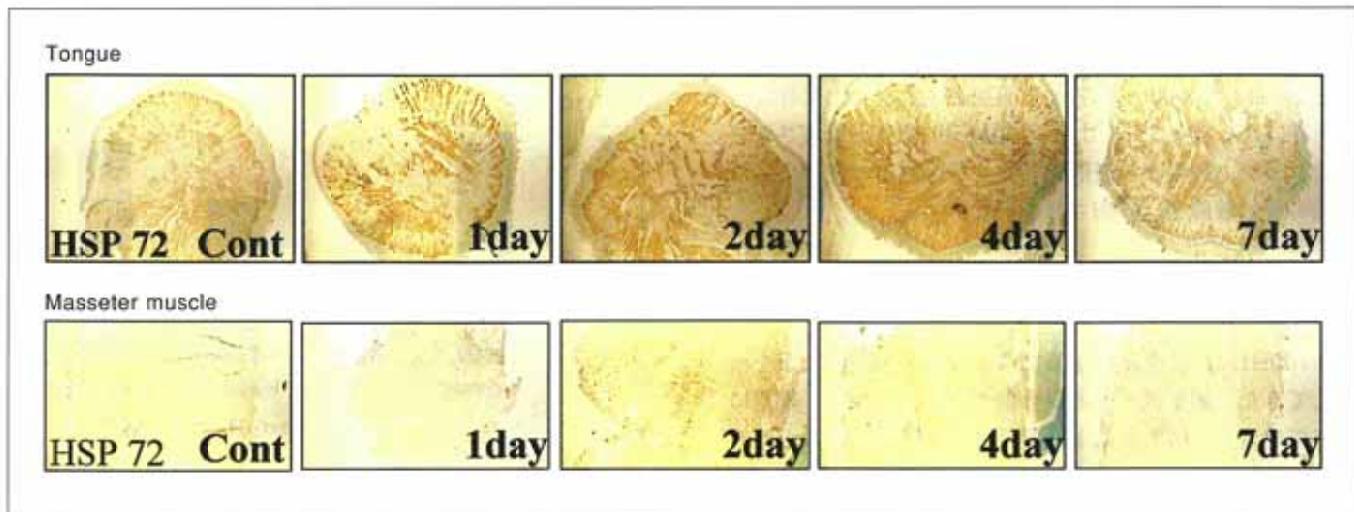


Fig. 5 Immunoblotting of tongue and masseter muscle with or without preheating of oral cavity against induced-type HSP 70 antibody. Tissues of tongue and masseter muscle were stained with induced-type HSP 70 antibody 1, 2, 4, and 7 days after heating the oral cavity of mice.

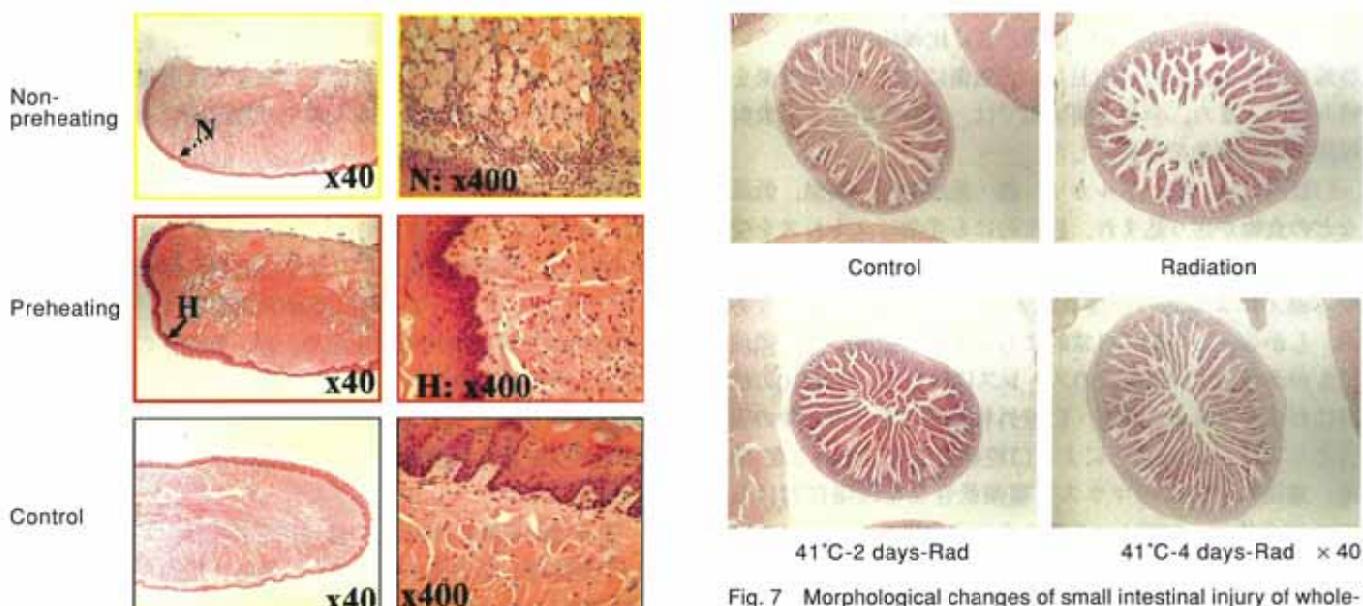


Fig. 6 Comparison of tissue damage to tongue caused by burning with or without preheating of oral cavity of mice. Burned tongue tissues of mice with or without preheating before burning were stained with HE. Arrows show magnified area (N: non-preheating, H: preheating).

像($\times 40$ 倍)を示した。無処置群に比し、照射群は明らかに絨毛が障害を受け、その長さが短くなっている。これに対し、予備加温2日後および4日後ともに放射線障害は軽減されていた。しかし、無処置群と比較すると予備加温2日、4日後照射群ともに絨毛は細く、照射による影響が認められた。

2) 小腸絨毛/腸陰窩の長さ比

小腸HE像から小腸絨毛と腸陰窩の長さを実測し、小腸絨毛/腸陰窩の比を算出した結果をFig. 8に示した。無処置の対照群 8.90 ± 1.01 に対し、小腸絨毛/腸陰窩の長さ比は、照

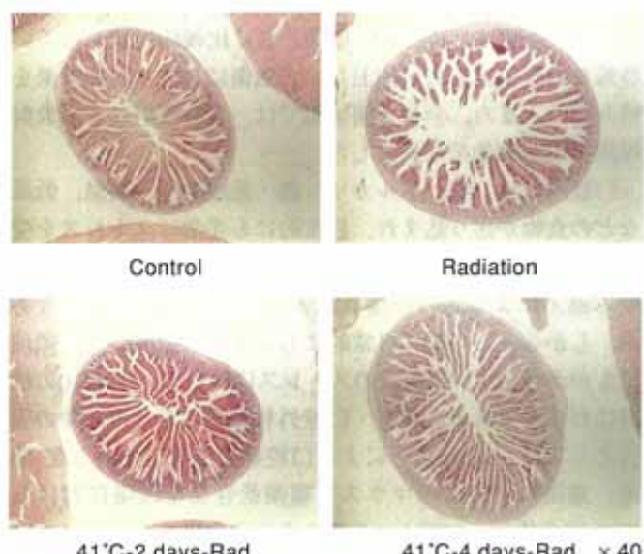


Fig. 7 Morphological changes of small intestinal injury of whole-body radiated mice with or without whole-body preheating at 2 days after whole-body radiation. Mice were radiated 2 or 4 days after whole-body preheating.

Table 1 Effect of oral cavity preheating on weight loss of mice following tongue burning

Group	Weight loss (g)	Weight loss rate (%)
Non-preheating	6.5 ± 0.2	17.7 ± 0.9
Preheating (oral cavity)	$5.6 \pm 0.5^{**}$	$16.0 \pm 1.1^*$

Body weight was measured 2 days after burning the tongues of mice with or without preheating of the oral cavity.

** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ compared with the control (non-preheating group).

射群で 5.49 ± 0.96 にと著明に低下していた($p < 0.01$)。これに対し、予備加温 2 日後照射では 6.35 ± 1.33 、予備加温 4 日後照射では 8.74 ± 1.03 と予備加温を実施した両群は、照射群に比し有意に($p < 0.01$)小腸絨毛の障害が軽減されていた。また、加温 2 日後照射より 4 日後照射の方が、より小腸の放射線障害は防御されていた。

考 察

われわれは、従来より予備加温による生体防御効果を検討してきた。細胞はできる限り傷害せず、しかし、細胞にとってはストレスとなる温度で細胞(生体)を温熱ストレスすることにより、HSP 70を誘導することができる。この誘導されたHSP 70を、その後に起きる傷害に対する生体防護作用に利用する。即ち、予想される傷害性ストレスの前に、予備加温してHSP 70を誘導させておき、傷害を軽減し回復を促進する。このマイルド予備加温療法について、全身および局所のマイルド加温での防御効果を報告してきた⁹⁾⁻¹³⁾。今回も、局所予備加温として比較的加温しにくい特殊な口腔領域を局所加温し、舌熱傷に対する防御効果を検討した。また、全身予備加温では、全身照射による放射線障害の防御効果を検討した。

口腔内には、酸、アルカリ、高・低浸透圧、高温、低温などの食物が送り込まれ、日常的にも非常にストレスを受けやすい組織である。高温の飲食物などによる舌の熱傷、噛み違えによる舌の咬傷など舌の傷害は日常茶飯事である。しかし、この様に日常的にもストレスの多い口腔領域にもかかわらず、口腔内のストレスに対して、HSP 70の検討はわずかである。歯科・口腔外科領域におけるHSPの報告としては、Meseら¹⁵⁾による口腔癌の予後とHSP 27の関連、島田ら¹⁶⁾によるマウス下顎頭軟骨発生段階におけるHSP 25の検討、Ohshimaら¹⁷⁾の歯牙発生時の歯髄、エナメル器におけるHSP 25の発現など低分子HSPの報告が多い。また、Andoら¹⁸⁾は歯周病の過程にさまざまなHSPが関与していると報告している。ストレス刺激に関しては、Merneら¹⁹⁾のアルカリ飲水による口腔粘膜の各種HSPの発現、Laplante ら²⁰⁾によるマウス表皮の創傷過程における各種HSPの発現、ヒト歯根膜線維芽細胞に対する周期的進展力(岡崎ら²¹⁾)およびメカニカルストレス(安井ら²²⁾)によるHSPの発現の報告がある。しかし、熱ストレス、特に予備加温によるストレス傷害の防御効果の検討は、全く報告がない。そこで、本研究では口腔局所をマイルド加温したときの頸下周囲組織のHSP 70の発現を検討するとともに、予め予備加温しHSP 70を誘導させておき、舌の熱傷における損傷治癒に対するHSP 70の防御効果を検討した。

われわれは、既に直腸温 41°C で30分のマウスマイルド全身予備加温実験でHSP 70の発現を認めていた。今回の口腔局所加温においても、 41°C 、30分間を予備実験として実施したが、HSP 70の誘導が僅かであったことより、 42°C 、30分加温とした。口腔内では温熱ストレスによるHSP 70の発

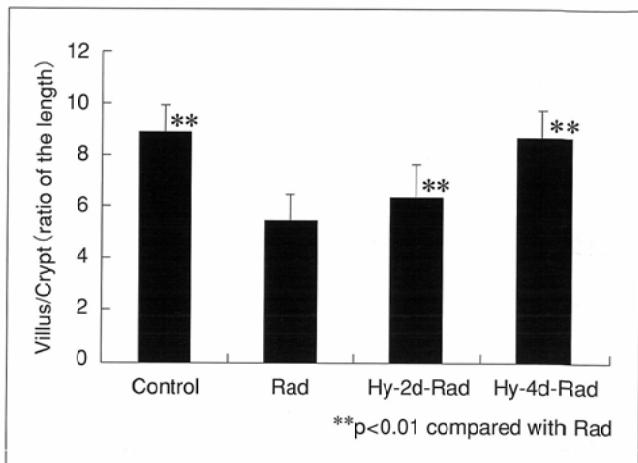


Fig. 8 Ratio of length of villus/crypt of whole-body-irradiated mice with or without whole-body preheating at 2 days after whole-body radiation. The length of the villus and crypt of whole-body-irradiated mice was measured after whole-body preheating.

現の閾値が、他臓器より高い可能性が示唆される。加温方法については、Fig. 2からも明らかのように、約3分と素早く 42°C に達し、加温5分以降では顕著な変動無く、安定した目的温度が持続され、本実験での加温が正確になされたことを証明している。

また、既に報告したマウスマイルド全身加温においては、末梢リンパ球のHSP 70は2日後有意に増加し7日後に回復し、副腎や下垂体も有意なHSP 70の増加が認められた^{11), 13)}。しかし、今回の口腔局所加温では、リンパ球のHSP 70は2日後増加傾向を認めたが、個体間のばらつきが大きく有意差は得られず、副腎や下垂体も有意な増加を認め無かった(Fig. 3)。これは、口腔内 42°C 、30分の局所加温が充分な全身性の温熱ストレス刺激にはならなかつたためと思われる。

頸骨周囲組織のHSP 70の発現に対しては、特に、舌において興味深い新知見が得られた。即ち、加温などのストレス刺激のない正常のマウスの舌において、既に舌組織に高いHSP 70の発現が認められた。これは、舌が日常のストレス刺激(飲食物のpH、温度、浸透圧ストレス)に対応するため、ストレス蛋白としてのHSP 70を常に高く維持し、舌をストレス傷害から防御しているためと考えられる。さらに、舌でのHSP 70の発現とストレス応答との関連および、その生理学的意義を今後検討していく必要があると思われた。

一方、咬筋は舌でのHSP 70の発現様式とは異なり、ストレス刺激のない対照群では、ほとんどHSP 70の発現はなく、加温2日後に有意なHSP 70を誘導し、7日後にはもとのレベルに回復しており、これまでわれわれの報告してきたストレス応答性の組織と同様な結果を示した^{11), 12), 23), 24)}。また、筋線維の組成や酸化能力の違いによりHSP 70の発現が異なる。Lockeらは²⁵⁾、典型的な筋肉のヒラメ筋は代謝・酸化力が強く刺激に対する閾値が低く、速筋よりHSP 72の発現が高いと報告している。舌は殆どが速筋であり、咬筋は速筋が10%以下であるという事実は免疫染色の結果と一致

する。

口腔局所予備加温のストレス傷害防御効果については、舌熱傷の損傷治癒の経過から検討した。舌熱傷後の舌組織の損傷をHE染色像から検討すると、舌熱傷2日後の舌深部の筋組織における損傷が予備加温群と非予備加温群とで明らかに異なっていた。非予備加温群では舌のゾンデによる熱傷が深部筋組織まで達し、変性しているものが多かったのに対し、予備加温群では、舌の深部筋組織の傷害は軽度であった。この結果が傷害からの回復の促進効果に大きく影響したものと考える。舌の熱傷により、飲食物の摂取が困難となり、予備加温群、非予備加温群ともに体重は減少したが、予備加温群の方が有意に体重減少は軽度であった。これらの結果は、予備加温群では予め誘導されたHSP 70が、熱傷による蛋白の損傷を直ちに修復するため、傷害が軽度で回復が良好となり、結果として体重の減少が有意に抑制されたものと思われる。

また、小腸の放射線障害に対しても、全身予備加温が有意な防御効果を示した。全身照射による小腸絨毛/腸陰窩の長さ比は、全身予備加温によって有意に軽減された。また、小腸の病理組織像からも、照射群の小腸絨毛の障害が予備加温により明らかに軽減されていた(Fig. 7)。これは、予備加温により誘導されたHSP 70による生体防御効果とHSP 70の分子シャペロン作用による損傷蛋白の修復促進作用による可能性が考えられる。

予備加温により誘導されたHSP 70は、熱傷や放射線以外にも、さまざまな傷害性ストレスに対し防御作用を示す。われわれはすでに、全身予備加温によるラットストレス潰瘍の防御¹²⁾、全身予備加温による家兎DICの防御⁹⁾、全身予備加温によるマウスのLPSエンドトキシンショックの防御²⁶⁾、ボツリヌス毒素の防御²⁷⁾、疲労の防御¹⁰⁾および、頭部局所予備加温による脳の温熱死の防御¹¹⁾、マウス腎局所予備加温による腎虚血・再灌流傷害の防御²⁸⁾など、予備加温により誘導された、HSP 70によるさまざまなストレス傷害に対する防御効果を報告している。さらに、ヒトでは予備加温により疲労が防御され、運動能力が向上する結果を得ている²⁹⁾。口腔外科領域においても、拔歯術、口腔癌手術、皮弁などの口腔外科領域の諸手術療法前に、予め口腔領域を予備加温しHSP 70を誘導しておくことにより、その手術損傷からの回復の促進効果が期待される。

また、加温すること自体による自然免疫能の増加に加えて、最近、HSP 70がNK細胞を活性化し³⁰⁾、樹状細胞の抗原提示能を増強することにより³¹⁾、深く免疫能の増強に関与していることが報告され、口腔内の様々な感染防御に有効

と思われる。よって、口腔内予備加温は、う蝕、歯周疾患により生じる口腔感染症防御や、MRSAなどによる術後感染防止にも有効と思われる。このように、口腔内の予備加温で誘導されるHSP 70による口腔内防御作用は、さまざまな口腔疾患に対する予防対策として、広く臨床応用の適応が期待される。さらに、熱により誘導されるエンドルフィンは、痛みの抑制効果を有することから、う歯治療や抜歯など歯科治療に伴う口腔内の鎮痛効果にも有効性が期待される。

さらに、全身予備加温による小腸放射線障害の防御効果から、予備加温療法は、新しい放射線障害防御方法の1つとして期待される。

結 語

予備加温により誘導されるHSP 70によるストレス傷害の防御効果を検討した。

局所予備加温として、マウス頸骨周辺組織を42°Cで30分間予備加温し、舌の熱傷に対する防御効果を検討し、(1)～(4)の結果を得た。また、全身照射による小腸放射線障害に対する全身予備加温(41.3～41.6°Cで30分)の防御効果を検討し、(5)、(6)の結果が得られた。

(1)末梢リンパ球のHSP 70は加温2日後増加傾向を示したが、有意差は得られなかった。

(2)頬筋のHSP 70は加温2日後有意に増加した。

(3)舌は、非加温時においても誘導型のHSP 72を強く発現していた。

(4)予備加温2日後、舌を熱傷させた予備加温群は、非予備加温群に比し舌の組織損傷および体重減少が有意に軽度であった。

これらの結果は、マウス口腔局所予備加温により、舌熱傷が防御されたことを示した。

(5)全身予備加温2または4日後に全身照射(14Gy)した2日後的小腸は、照射群に比し明らかに放射線障害が軽減されていた。

(6)このとき測定した小腸絨毛/腸陰窩の長さ比は、予備加温により照射群に比し有意に増加しており、加温2日後より4日後の方が効果的であった。

これらの結果は、マウス全身予備加温により、小腸放射線障害が防御されることを示した。

これらの結果より、局所および全身予備加温により誘導されるHSP 70により、さまざまなストレス傷害の防御の可能性が期待された。

文 献

- 1) Gorge L: Folding with two-stroke motor. *Nature* 388: 720–723, 1997
- 2) Ritossa F: A new puffing pattern induced by temperature shock and DNA in *Drosophila*. *Experimentia* 18: 571–573, 1962
- 3) Burdon RH, Slater A, McMahon M, et al: Hyperthermia and the heat-shock proteins of Hela cells. *Br J Cancer* 45: 953–963, 1982
- 4) Welch WJ, Feramisco JR: Nuclear and localization of the 72,000 dalton heat shock protein in heat-shocked mammalian cells. *J Biological Chemistry* 259: 4501–4513, 1984
- 5) Landry J, Bernier D, Chretien P, et al: Synthesis and degradation of heat shock proteins during development and decay of thermotolerance. *Cancer Res* 42: 2457–2461, 1982
- 6) 伊藤要子, 相原真理子, 小栗 隆, 他: 血管内皮細胞の温熱耐性とヒートショック蛋白(HSP 70). *日本医学会誌* 54: 1187–1189, 1994
- 7) Ellis RJ, Laskey RA, Lorimer GHL (ed.): *Molecular Chaperones*. 1993, Chapman & Hall, London
- 8) Hartl FU: Molecular chaperons in cellular protein folding. *Nature* 381: 571–580, 1996
- 9) 伊藤要子, 相原真理子, 堀 浩, 他: Hyperthermiaによる血液凝固の温熱. *日本ハイパーサーミア誌* 8: 287–290, 1992
- 10) Itoh YH, Hori H, Aihara M, et al: The changes of 31P-MR Spectra and thermotolerance in murine leg muscle by hyperthermia. *Shimoyama T ed: Hyperthermic oncology in Japan '93*. p242–233, 1993
- 11) 伊藤要子: 温熱療法の新しい臨床応用(予備加温療法)—加温により誘導されるHSP 70の生体防御作用—. 放射線生物研究 33: 381–397, 1998
- 12) Itoh YH, Noguchi R: Pre-treatment with mild whole-body heating prevents gastric ulcer induced by treatment and water-immersion stress in rats. *Int J Hyperthermia* 16: 183–191, 2000
- 13) 伊藤要子: プレコンディショニングとしてのストレス蛋白(HSP 70)—Heat(加温)とExercise(運動)のすすめ—. 放射線生物研究 37: 431–445, 2002
- 14) 伊藤要子, 菊地有純, 森田松次郎: 広範囲血液・尿科学検査. 免疫学の検査(1)—その値をどう読むか—熱ショック蛋白(ストレス蛋白)(HSP 70). *日本臨床* 57(臨時増刊): 266–268, 1999
- 15) Mese H, Sasaki A, Nakayama S, et al: Prognostic significance of heat shock protein 27 (HSP 27) in patients with oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 9: 341–344, 2002
- 16) 島田真弓: 発生・成長時マウス下顎骨関節頭軟骨における25kDa熱ショック蛋白質(Hsp 25)の局在とその役割. *金沢大学十全医学会雑誌* 111: 256–266, 2002
- 17) Ohshima H, Nakakura-Ohshima K, Maeda T: Expression of heat-shock protein 25 immunoreactivity in the dental pulp and enamel organ during odontogenesis in the rat molar. *Connect Tissue Res* 43: 220–223, 2002
- 18) Ando T, Kato T, Ishihara K, et al: Heat shock proteins in human periodontal disease process. *Microbiol Immunol*, 39: 321–327, 1995
- 19) Merne ME, Syrjanen KJ, Syrjanen SM: Systemic and local effects of long-term exposure to alkaline drinking water in rats. *Int Exp Pathol* 82: 213–219, 2001
- 20) Laplante AF, Moulin V, Auger FA, et al: Expression of heat shock proteins in mouse skin during wound healing. *J Histochem Cytochem* 46: 1291–1301, 1998
- 21) 岡崎雅子, 清水義之, 千葉美麗, 他: 周期的進展力によるヒト歯根膜線維芽細胞のストレスタンパク質の発現に関する研究. *東北大歯誌* 19: 108–115, 2000
- 22) 安井滋一, 前田 隆, 亀田 剛: メカニカルストレスに対する骨芽細胞と歯根膜細胞の反応性の違いについて. *歯学* 86: 64–71, 1998
- 23) 伊藤要子, 野口里恵, 山田史郎: 正常マウスの全身加温による10臓器の温熱感受性とアボトーシスおよび其の温熱耐性. *癌の臨床* 44: 181–182, 1998
- 24) 伊藤要子, 石口恒男, 綾川良雄: 副腎摘出によるストレスとストレス蛋白の検討. *日本医学会誌* 62: 161–167, 2002
- 25) Locke M, Noble EG, Atkinson BG: Inducible isoform of HSP 70 is constitutively expressed in a muscle fiber specific pattern. *Am J Physiol* 261: C774–C779, 1991
- 26) 伊藤要子, 石口恒男, 普天間新生, 他: マイルド加温(HSP 70)による生体防御効果. *日本ハイパーサーミア誌* 18(Supple): 89, 2002
- 27) 伊藤要子, 秋田辰幸, 石口恒男, 他: マウス全身予備加温のストレス蛋白による生物兵器ボツリヌス毒素からの生体防御効果—プレコンディショニングとしての予備加温—. *日本ハイパーサーミア誌* 18(Supple): 177, 2002
- 28) 伊藤要子, 倉部輝久, 松村英仁, 他: 予備加温により誘導したストレス蛋白(HSP 70)は腎虚血・再灌流傷害を防御する. *日本医学会雑誌* 62: S214, 2002
- 29) 伊藤要子, 田澤賢次, 小川耕作: 温熱トレーニング—ストレス蛋白(HSP 70)と運動能力の向上—. *日本ハイパーサーミア誌* 19(Supple): 57, 2003
- 30) Multhoff G: Activation of natural killer cells by heat shock protein 70. *Int J Hyperthermia* 18: 576–585, 2002
- 31) Milani V, Noessner E, Ghose S, et al: Heat shock protein 70: role in antigen presentation and immune stimulation. *Int J Hyperthermia* 18: 563–575, 2002