

ふりがな うん の ひで き
氏 名 海 野 秀 基
学 位 博 士 (歯学)
学 位 記 番 号 新大院博 (歯) 第 1 3 2 号
学位授与の日付 平成 2 0 年 3 月 2 4 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
博 士 論 文 名

Pulpal regeneration following allogenic tooth transplantation into mouse
maxilla

(マウス顎骨への歯の他家移植後の歯髄再生過程)

論文審査委員 主査 教 授 大 島 勇 人
 副査 教 授 齋 藤 功
 教 授 小 野 和 宏

博士論文の要旨

【目的】

歯の自家移植は、インプラントや補綴処置同様に、歯の喪失に対しての一般的な方法であり、成功率の高い (80~96%) 経済的な歯科治療である。歯の移植の成功率は、治療前後の因子、すなわち、患者の年令、歯根形成時期、歯種、歯周組織や歯髄の生活力、移植歯の歯槽外の時間や保存方法、ヘルトビッチの上皮鞘の損傷程度、移植床の状態などに影響を受ける。一方、歯の他家移植においては、組織適合性の問題により成功率が低いことが報告されているが、数年に渡って維持されている場合もある。これまでの歯の移植実験に関する研究は歯周組織に関心が払われ、歯髄組織の反応については、レントゲンや臨床症状を除いて十分に検索されてこなかった。一方、歯の再植に関する研究においては、歯髄反応について数多くの研究報告がある。これまでの研究により、歯の再植後には歯髄内に象牙質形成に加え、骨組織形成が起こることが報告されている。

歯の他家移植の臨床応用については、移植に伴う病気の伝搬や歯の自家移植の高い成功率により可能性の余地はないかもしれない。しかしながら、歯の他家移植が臨床応用されれば、適当な移植歯がない場合など、適応症は格段に広がる。最近我々は、マウス (4 週齢) を用いた歯の他家移植実験を確立したが、歯髄再生には失敗した。今回我々は、より若いマウス (2 週齢) を用いた顎骨への歯の他家移植実験系を確立し、歯髄再生に成功した。本研究は、歯の移植後の歯髄再生過程を免疫組織化学的・酵素組織化学的に検索した。

【方法】

同腹の 2 週齢マウスペアから右側上顎第一臼歯を深麻酔下で抜去後、相互に他家移植した。術後 1、3、5、7、14 日後に 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系固定液で灌流固定、EDTA 脱灰後、移植歯のパラフィン切片を作製した。引き続き抗 BrdU 抗体、抗ネスチン抗体を用いた免疫染色、酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ (TRAP) 染色を施し光顕で観察した。さらに、

異腹の2週齢マウスペアから上顎第一臼歯を抜去後、相互に他家移植した。また、未処置の左側上顎第一臼歯をコントロールとした。

【結果】

コントロールにおいて歯髄周辺部の象牙芽細胞がネスチン陽性を示したが、歯の移植後には歯髄内ネスチン反応が減弱した。術後5～7日で、既存の象牙質に連続してネスチン陽性の象牙芽細胞様細胞の分化ならびに象牙質形成が開始し、14日後になると免疫拒絶反応を惹起した例(10%)を除くとすべての症例で象牙質形成が認められた。また、異腹マウス同士の間科移植では、半数近くで免疫拒絶反応が起きたが(38%)、歯髄内には象牙質形成(38%)に加え、象牙質+骨組織混在群(23%)が観察された。免疫拒絶反応を起こした症例において、歯髄内には硬組織形成が観察され、歯髄内が骨髄様組織に置換していたのに対し、歯周組織は治癒していた。歯髄内細胞増殖活性については、根部歯髄では術後3日以降に活性が亢進したのに対し、冠部歯髄では術後5日に活性が亢進した。

【考察】

本研究は歯の顎骨への他家移植実験系を確立したが、従来の実験はウサギ、イヌ、サルを用いた実験であり、我々の予備実験を除くとマウスを用いた実験は初めての報告である。一方、歯の再植に関しては、数多くの動物実験が報告されている。その中で、最近我々はマウス(3週齢)を用いた歯の再植実験を確立したが、歯の再植後の歯髄修復過程が本研究における歯の他家移植後のものと類似していた。すなわち、歯の再植・移植後には歯髄内には象牙質形成と骨組織形成が惹起されることが明らかになった。しかしながら、治癒過程の詳細には違いがあった。著しい違いは歯の他家移植後の免疫拒絶反応に現れているが、それとは反対に、本研究の同腹を用いた場合には、象牙質形成の割合が歯の再植(43%、対合歯を抜去した場合には60%)に比べて高かった(90%)。さらに、歯の再植の場合には持続的炎症反応が認められた(20～21%)。この違いは用いた動物の週齢の違いに起因していると考えられた。若いマウスでは、根尖孔が広く、本実験の2週齢では歯が萌出していないことが、血行の回復や、移植歯の口腔内細菌感染からの防御に有利に働いたと考えられた。

本実験で特筆すべきことは、術後7日においてすべての症例で免疫拒絶反応は起こらず、14日後には免疫拒絶反応が起きた場合にも歯髄内に硬組織形成が確認できたことである。この結果は、免疫拒絶反応が起きた場合でも、象牙芽細胞分化が起こり、キラーT細胞がドナー細胞を死滅させたことを示している。さらに、免疫拒絶反応が起こった場合にも、歯周組織は治癒しており、ドナーの細胞が除去された後に、ホスト細胞により歯周組織が置換したことを示唆している。ドナー細胞の運命とホスト細胞による歯周組織再生については、GFPやROSA26トランスジェニック動物を用いた更なる解析が必要である。

審査結果の要旨

歯の自家移植は、インプラントや補綴処置同様に、歯の喪失に対しての成功率の高い歯科治療であるが、歯の他家移植については、組織適合性の問題により成功率が低いことが報告されている。これまでの歯の移植実験に関する研究は歯周組織に関心が払われ、歯髄組織の反応については十分に検索されてこなかったが、本研究では、マウスを用いた歯の他家移植実験系を確立し、免疫組織化学的・酵素組織化学的手法を用いて、歯の他家移植後の歯髄再生過程を明らかにしている。

本研究はマウスを用いて歯の顎骨への他家移植実験系を確立したが、過去の歯の再植実験結果と比較すると興味深い結果が提供されている。まず、歯の再植同様歯の移植後には歯髄内には象牙質形成と骨組織形成が惹起されることが明らかになったが、治癒過程の詳細には違いがあった。著しい違いは歯の他家移植後の免疫拒絶反応に現れているが、それとは反対に、本研究の同腹を用いた場合には、象牙質形成の割合が歯の再植に比べて高く、歯の再植の場合に認められた持続的炎症反応が歯の移植では見られなかった。この違いは用いた動物の週齢の違いに起因していると考えられ、本実験では根尖孔の広い未萌出歯を用いていることが、血行の回復や、移植歯の口腔内細菌感染からの防御に有利に働いたと考えられた。この知見は、ヒトの歯の移植を考える上でも重要な知見であると言える。

本実験で特筆すべきことは、術後7日においてすべての症例で免疫拒絶反応は起こらず、14日後には免疫拒絶反応が起きた場合にも歯髄内に硬組織形成が確認できたことである。この結果は、免疫拒絶反応が起きた場合でも、象牙芽細胞分化が起こり、その後に象牙芽細胞を含むドナー細胞の除去が起きたことを示している。さらに、免疫拒絶反応が起こった場合にも、歯周組織は治癒しており、ドナーの細胞が除去された後に、ホスト細胞により歯周組織が置換したことを示唆している。ドナー細胞の運命とホスト細胞による歯周組織再生については、GFPやROSA26トランスジェニック動物を用いた更なる解析が必要であり、今後の研究の発展が期待される。

以上より、本研究は、マウスのような小動物で初めて歯髄再生を促す歯の他家移植実験系を確立し、卓越した形態学的手法を用いて歯の他家移植後の歯髄および歯周組織の創傷治癒過程を免疫組織化学的・酵素組織化学的に解明しており、学位論文としての価値を認める。