

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 浜谷 桂 佑
学位 博士(歯学)
学位記番号 新大院博(歯)第474号
学位授与の日付 令和3年3月23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 ラット垂直歯根破折修復モデルを用いた歯科生体材料に対する歯根膜組織反応の組織学的検索

論文審査委員 主査 大島 勇人 教授
副査 魚島 勝美 教授
副査 泉 健次 教授

博士論文の要旨

【目的】

近年、歯科疾患予防の概念が浸透したことにより、う蝕や歯周病による歯の喪失頻度は年々減少している。一方で、歯根の垂直破折による歯の喪失は目的外的増加傾向にある。また、超高齢社会においては歯冠修復物や固定性補綴物の長期経過症例が増加し、歯根破折は今後も増え続けると考えられるため、早急な対応と解決策の確立が求められている。しかしながら現状においては、歯根破折歯修復の臨床データは少なく、また、術式や使用材料といった治療法に関する研究・開発もほとんどなされていない。MMA系レジンセメントを使用した接着修復治療では、良好な予後がいくつか報告されているものの、治療後に破折線に沿って露出する材料が同部位の深いポケット残存の原因となり、再度感染を生じる可能性が高いという問題がある。本研究の目的は、垂直歯根破折に対する臨床成績の更なる向上を目指し、我々が確立したラット垂直歯根破折実験モデルを用いて、各種歯科生体材料に対する歯根膜組織の反応を組織学的に観察することである。

【方法】

4.5週齢のオスSDラットの上顎第一臼歯(n=76)を、対照群(n=16)および実験群(n=60;各群n=12)として4-META/MMA-TBBレジンセメント(SB)群、バイオセラミック系シーラー(BG)群、光重合型レジン強化型ケイ酸カルシウム覆髄材(LC)群、Mineral Trioxide Aggregateセメント(MTA)群、Resin-modified MTA(RmMTA)群、計6群に無作為に分けた。実験群は全身麻酔・局所麻酔後に上顎第一臼歯を抜歯し、近心根に垂直歯根破折線を模した窩洞を付与、各材料を充填後再植した。対照群は抜歯後、窩洞を付与せずに再植した。再植した上顎第一臼歯は脱落や動揺を防ぐために4-META/MMA-TBBレジンセメントを使用して上顎第二臼歯と接着連結固定した。また、咬合による影響も避けるため、対合である下顎第一臼歯と第二臼歯の抜歯も行なった。再植後1、3、7、14日に安楽死させ、脱灰薄切標本を作成、組織学的検索を行った。

【結果と考察】

抜歯及び再植処置を行わない場合、歯根周囲の歯周組織には炎症性細胞の浸潤は見られず、活発な骨改造もほとんど認められなかった。また、歯根膜線維は規則性をもって歯根表面から歯槽骨表面に連続的に走行しており、セメント質に垂直に走行するシャープー線維様の線維が認められた。対照群では術後1日では再植に伴う歯根膜の断裂が認められ、術後3日では毛細血管の新生が認められた。術後7日で炎症性細胞はほとんど認められず、術後14日では歯根膜の断裂はほぼ修復されており、骨芽細胞様細胞と新生骨様組織が歯槽骨表面に認められた。また、コラーゲン線維が歯根表面から歯槽骨表面に連続的に緊密に走行しているのが確認できた。各実験群の術後1日、3日も対照群と同様な所見で、他に特別な所見は認められなかった。SB群の術後7日では炎症性細胞の浸潤は減少傾向にあるものの依然として認められた。充填材料表面は軟組織で覆われており、コラーゲン線維の走行は不規則であった。術後14日では炎症性細胞の浸潤はほとんど認められなくなり、周囲の炎症性反応は消失していた。材料表面は染色性の濃い軟組織で覆われていた。MTA群の術後7日では材料表面に炎症性細胞が多少認められ、窩洞には無細胞性の構造物が認められた。

術後 14 日では炎症性細胞がほとんど認められなくなり、術後 7 日と同様に無細胞の構造物が窩洞を満たすようになっていた。充填材料表面には線維性の組織が認められたものの、歯根膜線維と連続するような所見は確認できなかった。RmMTA 群と LC 群は術後 7 日では充填材料表面に炎症性細胞の浸潤が認められ、術後 14 日においても炎症性細胞の浸潤が認められた。BG 群の術後 7 日では破歯細胞線維や破骨細胞線維が認められ、術後 14 日においては依然として炎症性細胞が強く認められた。以上のように SB 群と MTA 群では炎症性細胞が消失し、高い生体親和性が認められた一方で、他材料では炎症性反応が残存していた。また、断裂した歯根膜は、いずれの材料でも概ね治癒したものの、材料表面と歯槽骨をつなぐシャーピー線維はほとんど認められなかった。本研究の結果からは、今回用いた各種生体材料表面へのセメント芽細胞の誘導や表面での石灰化、結合組織性の付着は得られなかった。また、各種材料の硬化後の強度に問題があり、再植後に窩洞内にとどまる材料が少なくなった可能性も否定できない。今後は露出した 4-META/MMA-TBB レジンセメント表面への材料塗布を想定した材料の生体組織内での安定性を含めた検証が必要である。しかし、各種材料に対する歯根膜組織の反応が異なることが確認でき、一部で材料を充填した窩洞丘傍で若干の石灰化が観察できる標本もあったことから、使用する材料の物性や生物学的効果をさらに模索することで、このモデルを用いて最終的な目的である材料表面での歯根膜の再生を実現できる可能性が示されたとと言える。

【結論】

今回の実験の結果、ラットにおける歯根破折歯再植モデルを構築できたことで、各種歯科生体材料に対する歯根膜組織の反応を組織学的に評価し、各材料の特徴が確認できた。しかしながら、いずれの材料もその表面での完全な歯根膜の再生をもたらすものではなく、今後はサイトカインの併用等、さらなる研究が必要である。

審査結果の要旨

垂直歯根破折を引き起こすと、歯頸部から破折線に沿った細菌侵入が認められ、細菌感染と炎症が進行し、歯周組織破壊が生じる。一方で、歯根破折歯に対し、象牙質に対する高い接着性を有する 4-META/MMA-TBB レジンセメントを応用した接着修復法により、垂直歯根破折歯を保存できる可能性が示唆されている。しかし、歯根表面に露出した修復材料上では結合組織性付着を再獲得することはできず、歯周ポケットの残存に伴う、再感染と炎症の再発、さらには 4-META/MMA-TBB レジンセメントの劣化による再破折が未解決問題である。本研究は 4-META/MMA-TBB レジンセメント(SB)群、バイオセラミック系シーラー(BG)群、光重合型レジン強化型ケイ酸カルシウム覆髄材(LC)群、Mineral Trioxide Aggregate セメント(MTA)群、Resin-modified MTA(RmMTA)群等様々な歯科材料を歯根表面に露出させる歯根破折修復の再植モデルを用いて、歯科材料周囲の組織治癒を組織学的に観察し、4-META/MMA-TBB レジンセメントと併用するのに最適な材料の検索を目的とした。

過去の実験ではビーグル犬やネコといった大型動物を使用して歯根破折に関連する研究が行われていたが、本研究では数種類の材料や方法を検討するため、世界で初めてラットを用いた垂直破折修復処置モデルを確立した。本モデルを使用して、現在臨床応用している 4-META/MMA-TBB レジンセメントでは成し遂げられない、材料表面へのセメント質の再生および歯根膜を再生することで、結合組織性付着の再獲得を実現することを最終目標とした。

SB 群では歯根表面における材料上上皮様細胞による被覆が認められた。MTA 群では窩洞の歯髄側に無細胞性の硬組織が認められたが、歯根表面では上皮様細胞による被覆は認められなかった。SB 群および MTA 群は、いずれもコラーゲン繊維の走行が材料表面で不規則であったが、再植 14 日後では炎症性細胞が消失し、生体親和性の高さが認められた。他の 3 つの実験群では再植 14 日後においても炎症性反応が持続していた。今回の実験群は、いずれにおいてもセメント芽細胞の誘導とそれに伴うセメント質および歯根膜の再生は認められなかった。

動物愛護管理法の「3R の原則」に従うと、個体差がなく、再現性の高い実験系が望まれるため、技術的ハードルが高いが、ラットやマウスなどの小動物で実験系を確立する意義は大きい。申請者が確立したラット垂直歯根破折実験モデルは、全て市販の材料・器具で行なっており、手技的に比較的容易であると判断され、再現性が高い。動物の週齢についても試行錯誤して、4.5 週齢では殆ど未完成歯根が認められなくなり、また、偶発的な歯根破折を引き起こすことなく抜歯ができ、再植できることが確認されたため、4.5 週齢を週齢を定めた。抜歯・窩洞付与・材料充填・再植という手技が確実に施行できる上顎第一臼歯を選択した。また、咬合性外傷の影響を避けるために、対合歯を抜去する配慮も行っている点など、本動物実験モデルの確立は学位論文の価値に値する。

本研究では、ラットにおける歯根破折歯再植モデルを構築できたことで、各種歯科生体材料に対する歯根膜組織の反応を組織学的に評価し、各材料の特徴が確認できた。しかしながら、いずれの材料もその表面での完全な歯根膜の再生をもたらすものではなく、今後さらなる研究が必要である。本研究の目的は様々な歯科材料を歯根表面に露出させる歯根破折修復の再植モデルを用いて、歯科材料周囲の組織治癒を組織学的に観察することであったが、研究方略として、HE 染色等の組織学的な所見をベースにしているが、免疫組織化学染色等にて検証していないところに限界がある。上皮やセメント芽細胞のマーカータンパク質による免疫組織化学的検索が必要である。

歯の再植という実験系は、口腔環境からの影響を受けやすく、歯髓の治癒過程が歯周組織の治癒過程にも影響を及ぼす実験系なので、評価には統計的解析などの客観的な指標が必要である。また、窩洞が歯頸部から根尖にかけて長い窩洞なので、口腔環境の影響を受けやすいため、窩洞デザインの変更も視野に入れる必要がある。

本研究の目的は従来の歯根破折歯修復の際に歯根表面に露出する歯科材料の表面にセメント質や歯根膜を再生し、結合組織性の付着を再獲得することであった。しかしながら今回の使用材料・応用方法では、材料表面にセメント芽細胞が誘導されず、セメント質や歯根膜の再生が認められなかったため、臨床的問題となっている「歯周ポケットの残存」を回避できない可能性が高いことがわかった。よって、既存の材料・応用方法から改良・開発が必須であることが明らかとなった。今後、本動物実験モデルを発展させた更なる研究の進展に期待したい。

本研究は、生体親和性と細胞誘導性を備え、かつ接着性と強度を有するセメント質の再生を促す材料・方法の開発が最終目標である。しかしながら、現在はそのような材料・方法は存在しない。もしそれらの開発ができれば、近年う蝕や歯周病と比較して増加している「歯の破折」により抜歯となる歯を救うことができ、患者さんの咬合崩壊を食い止めることができる。本研究は、そのような成果に繋がる可能性を提示しているので、学位論文としての価値を認める。