

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙	第 号	論文提出者名	河村 玲
論文審査 委員氏名	主査 村上 弘 副査 本田 雅規 服部 正巳			
論文題名	歯髄誘導に關与する化学的微小環境の抽出 及び再構築による歯髄再生能の検討			

インターネットの利用による公表用

(論文審査の要旨)

No.1.....

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

これまでの研究で、移植する由来細胞の種類に関わらず、移植した根管内に歯髄が再生することから、象牙質自体が歯髄再生に必要な微小環境であることが示唆されている。しかし、象牙質内の歯髄再生に関与する化学的要因はまだ解明されていない。そこで、申請者は、異所性歯根移植モデルを用いて、歯髄再生に関与する化学的微小環境の抽出方法の検討及び化学的微小環境の再構築による歯髄再生能の評価を行っていた。

ブタ歯髄細胞を分取、培養し、50%コンフルエントの状態にて無血清培地に変え、24時間後に培養上清として回収した。ブタ下顎前歯を抜去し、歯根膜剥離、抜髄後、歯根中央部を高さ6mmの円柱状に切断した。その後、塩酸、グアニジン塩酸、EDTAにて段階的に浸漬させ、各段階の処理歯根と未処理歯根を含めた計4種類用意した。また、処理に用いたEDTAの抽出液を保存した。各移植歯根の根管内にブタ歯髄幹細胞とコラーゲンを注入し、SCIDマウスの腹腔に移植した。移植歯根は28日後に摘出し、包埋、薄切後、HE染色を行い、組織再生率を比較していた。再生組織における細胞密度をHoechst 33342、血管新生能をRECA1抗体による免疫染色後、観察、解析していた。再生組織における歯髄マーカー (*TRH-DE*) を *in situ hybridization* 後、観察していた。さらに、再生組織における *TRH-DE* の発現量を real-time RT PCR で解析していた。再生組織の象牙芽細胞への分化能を、*in situ hybridization* 後の *enamelysin* 陽性細胞数を解析、比較していた。再生組織における周囲組織マーカー発現を、periostin、PLAP-1 抗

体による免疫染色後、観察、解析していた。以上の方法で歯髄再生に關与する化学的微小環境の抽出方法を検討していた。

次に、未処理歯根にオートクレーブ処理を行い、化学的微小環境を不活化させ、物理的微小環境のみを温存させた。オートクレーブ処理した歯根に前述の EDTA 抽出液、上清、またはそれらの混合物を凍結乾燥処理にて付着させた移植歯根とオートクレーブ処理のみをした計 4 種類を用意した。これらの処理歯根を前述と同様に移植し、歯髄再生能を比較、検討していた。

塩酸、グアニジン塩酸、EDTA にて段階的に移植歯根を処理した結果、EDTA 処理歯根で歯髄再生率、細胞密度、血管新生能、象牙芽細胞数が著しく低下した。また、未処理、塩酸、グアニジン塩酸処理歯根の再生組織には TRH-DE の発現を認めたが、EDTA 処理歯根では発現を認めなかった。PLAP-1 陽性細胞率は EDTA 処理歯根で有意に増加した。以上の結果より、歯髄再生に關与する化学的微小環境因子は EDTA 抽出液に含まれていると考えた。

次に、化学的微小環境の再構築による歯髄再生能の比較を行った。オートクレーブ処理歯根、EDTA 付着歯根では歯髄が再生しなかったが、上清付着歯根では歯髄再生、血管新生を認めた。さらに、混合液付着歯根では上清付着歯根より、歯髄再生能を向上させることが示唆された。また、再生組織には TRH-DE の発現を認めた。上清付着歯根における PLAP-1 陽性細胞率は、未処理、混合液付着歯根より有意に高かったが、未処理歯根と混合

(論文審査の要旨)

No.3.....

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

液付着歯根の間に有意差は認められなかった。

以上より、歯髄再生に関与する化学的微小環境は EDTA 抽出液、歯髄幹細胞培養上清に含まれることが示唆された。EDTA 抽出液だけでは歯髄は再生しなかったが、EDTA 抽出液と歯髄幹細胞培養上清の両方を付着させることで、培養上清単独時より、歯髄再生能を向上させることが示唆された。

以上、本研究は、今後の口腔インプラント学、歯科補綴学、口腔解剖学並びに関連諸学科に寄与するところが大きい。よって、本論文は独創的かつ新規性があり、博士（歯学）学位を授与するに値すると判断した。