

# 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	田中 翔
論文審査 委員氏名	主査 長尾 徹  副査 有地 榮一郎 本田 雅規		
論文題名	歯根未完成歯および歯根完成歯を口腔外のマウス背部皮下に移植したときの歯髄内応答の組織学的解析		

インターネットの利用による公表用

従来、壊死歯髄を有する歯根未完成歯の治療にはアペキシフィケーションがおこなわれてきた。これは、根尖部に薬剤を貼付し、硬組織で閉鎖させる方法だが、それ以上の歯根の成長は望めない。従って、歯髄の機能を維持することは、歯根の成長に不可欠である。

近年、象牙質-歯髄複合体の再生を目的として、再生歯内療法 (RET) が検討されている。しかし、RET をおこなった歯の根管内に形成された組織は、歯髄ではなくセメント質、骨組織と報告されている。RET を成功させるには、損傷した歯髄組織が硬組織に置き換わる性質を把握することが重要である。これまでのところ、RET の実験モデルにはラットなどの実験動物が使用されてきたが、口腔内は視野が狭く、困難である。現在、マウスの歯を口腔外に移植する実験モデルが存在し、皮下組織は無菌であり、移植された歯は感染の兆候を示さなかったことが報告されている。感染を考慮せずに済む異所性移植モデルは、有用で再現性があると考えられる。従って、本研究では、象牙質-歯髄複合体を再生できる RET の技術を開発するための核心となる歯の背部移植モデルを確立することを目的とした。また、緑色蛍光タンパク質を発現する GFP マウスを使用し、再生した組織の由来を探索する。

まず、使用するマウスの週齢を決定するためにマイクロコンピューター断層撮影法を用いて C57BL/6J マウス 3 週齢から 14 週齢までの下顎第 1 臼歯を撮影した。その結果、下顎第 1 臼歯が 8 週齢で完成することを示した。本結果に基づき、3 週齢 (根未完成歯)、6 週齢 (根完成直前) および 12

週齢（根完成歯）の C57BL/6J マウスおよび GFP マウスを選択した。

3、6 および 12 週齢の C57BL/6J マウス下顎第 1 臼歯を 3 週齢の GFP マウスの背部皮下へ、次に 3、6 および 12 週齢の GFP マウス下顎第 1 臼歯を 3 週齢 C57BL/6J マウスの背部皮下へ移植した。移植してから 5 週間経過後、摘出した移植体の組織学的および免疫組織学的解析をおこなった。なお、組織学的解析にはヘマトキシリン・エオジン染色を用いた。3、6 および 12 週齢の歯髄壊死を起こしていない髄腔には血管および硬組織の形成を認めた。そして、GFP 抗体を用いて血管を構成する細胞の由来を確認した。根未完成歯および根完成歯に関わらず、血管内皮細胞は冠部歯髄ではドナー由来の細胞で、根部歯髄ではレシピエント由来の細胞で構成されていた。本研究結果は、歯の周囲から侵入した血管と元の歯髄に存在する血管が吻合して血管が再建されることを示唆するものである。

また、本研究では、2 種類の硬組織が髄腔に形成された。1 つは、象牙質壁に連続した無細胞層として観察され、もう 1 つは細胞が封入されたセメント質に類似したものであった。なお、抗ネスチン抗体および抗ペリオスチン抗体を用いた免疫染色や ALP および TRAP 染色は、それぞれ象牙芽細胞、セメント芽細胞、骨芽細胞および破骨細胞を特定するために使用した。象牙質壁に連続した硬組織の特性は、ドナーマウスの週齢によって異なっていた。3 週齢の移植歯には象牙質壁に連続した硬組織の表面にネスチン陽性細胞を認めた。しかし、6 週齢および 12 週齢の移植歯に形成されたそ

の硬組織は ALP にのみ陽性反応を示した。従って、3週齢の移植歯に形成された無細胞で象牙質に連続した硬組織は象牙質である可能性が示唆された。次に、象牙芽細胞の由来を確認するために抗ネスチン抗体および抗 GFP 抗体の二重蛍光免疫染色をおこなった。象牙芽細胞がレシピエント由来の細胞で構成されており、間葉系幹細胞から分化した可能性が示唆された。また、髄腔内に形成されたセメント質様硬組織は、ALP にのみ陽性反応を示した。従って、セメント質様硬組織および6週齢と12週齢の象牙質壁に連続した硬組織は calcific metamorphosis の関与が示唆された。

Calcific metamorphosis は、髄腔への硬組織の沈着を特徴とする外傷に対する歯髄の反応として定義されており、歯髄の神経血管供給の損傷が、このメカニズムに関係していると報告されている。さらに、抗 GFP 抗体を用いることで、ドナー由来およびレシピエント由来の細胞が calcific metamorphosis を形成する細胞に分化する可能性があることを示唆した。

本研究の結果より、背部皮下移植後に血管が髄腔内に侵入し、硬組織が形成されたことから、根未完成歯および根完成歯の背部移植は RET を研究するために有用なモデルとなり得ることが示された。

本研究は RET のプロトコルを作製するための基盤研究であり、この結果は口腔外科学、口腔解剖学なら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、博士(歯学)の学位授与に値するものと判定した。