

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 746 号	論文提出者名	佐藤 伸明
論文審査 委員氏名	主査 前田初彦 副査 栗田賢一 河合達志 本田雅規		
論文題名	ラット歯髄由来細胞のチタン表面での骨形成 能		

インターネットの利用による公表用

本研究はラット歯髄由来細胞のチタン表面での骨形成能を検討する目的で、細胞培養実験と動物を使用した力学的試験を行っている。

現在、インプラント治療は咬合の回復のための有効な治療法として広く行われており、早期に良好なオッセオインテグレーションを獲得することが必須となる。このオッセオインテグレーションを獲得するまでの期間を短縮するため、様々な研究が行われている。

近年、歯髄中の間葉系幹細胞が骨様の硬組織を形成することが報告されている。現在、間葉系幹細胞の細胞源として骨髄由来幹細胞が検討されているが、骨髄液を得るためには腸骨骨髄穿刺を行わなければならない、採取するのは困難である。これに対して、歯髄由来細胞は抜去した智歯から入手することができ、比較的に入手が容易なため、その有用性が期待されている。しかしながら現在までに、歯髄由来細胞をインプラント治療へ応用した報告はあまりみられない。

そこで申請者は、実験1としてラット切歯歯髄由来細胞のチタン表面における細胞増殖能および細胞分化能について検索を行った。また、実験2としてラットの大腿骨にシリンダー型チタンインプラントの埋入および培養細胞の移植を行い、その機械的強度及び組織学的検索を行った。

実験1ではチタンは厚さ1 mm、直径20 mmの第2種純チタンディスク(機械研磨)を、アルミナによるサンドブラスト処理をした後に、67%硫酸で120℃、75秒間反応させて酸処理を行ったものを使用している。

細胞培養は、SD ラットの上下顎切歯から歯髄組織を採取し、骨芽細胞分化誘導培地にて培養している。培養細胞の増殖能および分化能の評価として、WST-1 (1、3日目)、ALP 活性 (5、10日目)、ALP 染色 (5、10日目)、石灰化能の評価として Alizarin Red 染色 (10、20、30日目) を行なっている。また遺伝子発現を検索するために、培養1、3、5、10、20、30日目に、チタン表面で培養した細胞について、Real-time PCR を行なっている。

表面処理を施したチタン表面には直径約 $42.6 \pm 13.4 \mu\text{m}$ の凹凸構造がみられた。また拡大像では表面に直径約 $1.9 \mu\text{m}$ の小孔よりなる微細構造が確認されている。チタン表面で培養した細胞の増殖能、分化能および石灰化能は、すべての結果において増加が確認されている。Real-time PCR における各遺伝子の相対発現量は、Collagen I は培養5日目、Alkaline Phosphatase は10日目、Osteopontin は20日目、Osteocalcin は30日目においてそれぞれ最大値を示している。

実験2では実験1と同様の表面処理を施したシリンダー型チタンインプラントをラットの大腿骨に埋入している。実験群には、インプラント埋入処置の直前に回収した培養歯髄由来細胞を埋入窩へ注入している。また、対照群には、インプラントのみを埋入している。インプラントの埋入後、2週および4週においてラットの大腿骨を摘出し、push-in test による力学的試験と、非脱灰研磨標本による組織学的検索を行なっている。染色に

はマッソン・ゴールドナー染色変法を用いている。

インプラントの埋入2週後、4週後ともに、実験群における力学的強度、骨-インプラント接触面積率および、インプラント体周囲50 μm の範囲に形成された骨組織の面積率は対照群と比較して有意に高い値を示している。

実験における各データは、それぞれ統計学的解析として Student's t-test および、Tukey 法による多重比較検定を行い、有意水準を5%としている。

本実験における実験動物の扱いは、愛知学院大学歯学部動物実験指針に従って行い、愛知学院大学歯学部動物実験委員会の承認（承認番号 104）を受けている。

近年のインプラント治療において、即時荷重法や早期荷重法などの術式の改変が行われてきているように、早期にインプラントが骨に結合することは極めて重要である。また骨量がインプラント埋入には不十分であるために自家骨移植や人工骨による再建が併用された症例においても、その骨質は既存骨と比較し脆弱である場合も多く、一般的に長期の治癒期間が必要であると言われている。これらのことを考慮すると、オッセオインテグレーションのさらなる向上が要求される。本研究において、歯髓由来細胞を用いることで、骨-インプラント結合の強度の向上および、早期確立が見込めることが明らかとなり、インプラント治療に大いに寄与すると考えられる。

以上、本研究は今後の口腔インプラント学のみならず口腔病理学、口腔

(論文審査の要旨)

No.4.....

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

外科学、歯科理工学、口腔解剖学、および関連諸学科に寄与するものと期待される。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。