

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	㊦ 第 号	論文提出者名	伊藤 発明
論文審査 委員氏名	主査 栗田 賢一 副査 長尾 徹 本田 雅規		
論文題名	下歯槽神経再生におけるシュワン細胞移植の 効果		

インターネットの利用による公表用

本研究は、下顎智歯抜歯やインプラント関連手術に起因した一過性または完全な下歯槽神経麻痺に対し、臨床に即した新規実験動物モデルを開発し、そのモデルを利用して末梢神経への細胞移植に利用されているシュワン細胞の移植効果を検討することを目的におこなった。

全身麻酔下に4週齢のSDまたはGFPラットの坐骨神経を摘出し、通法に沿って純度が高くなったシュワン細胞を細胞移植に使用した。

モデルの作製には、4週齢の雄性SDラットを用いた。全身麻酔下に、下顎右側第一臼歯を顕微鏡下で抜去し、すぐに抜歯窩から虫ピンを下顎下縁に達するまで30分間挿入して下歯槽神経 (IAN) を損傷した。これを Injury group とした。

抜歯窩より虫ピンを取り外した後、GFPまたはSDシュワン細胞 (SCs; 4.0×10^5 個/シュワン細胞培地; SCM $4 \mu\text{L}$) を抜歯窩に移植し、これを Cell group とした。なお、Injury group には SCM $4 \mu\text{L}$ のみを抜歯窩に注入した。また、下顎右側第一臼歯のみを抜歯した群を Control group とした。

下唇知覚評価である von Frey 試験を、Cell group、Injury group、および Control group で術後2週間毎日実施した。

手術直後、術後1および2週で実験各群のラットの下顎骨をマイクロCTで撮影した。

術後1週および2週で Cell group、Injury group の下顎骨を摘出し、冠状面で薄切したパラフィン切片をヘマトキシリン・エオジン (H&E) 染色

をおこなった。さらに、術後2週の検体において、下顎管内に再生した IAN の最大直径を測定し、その再生程度を解析した。

また、術後1週および2週で薄切したパラフィン切片を免疫組織化学的に解析した。一次抗体として抗 Myelin basic protein (以下 MBP) 抗体を使用して髄鞘の観察を、抗 S100B 抗体を使用してシュワン細胞の分布を、抗 GFP 抗体を使用して移植されたシュワン細胞を同定した。

Cell group と Injury group における逃避反射閾値は、どちらも術後7日目に低下をし始めた。術後8および9日目になると、Cell group は Injury group よりも有意に低くなった。

術後のマイクロ CT 画像より抜歯窩の骨量と骨塩密度 (BMD) を測定したところ、Injury group と Cell group における骨量と BMD は、術後1週および2週でも有意な差を認めなかった。

H&E 染色した組織像における、両群の術後2週における再生 IAN の直径を ImageJ (NIH) で測定したところ、再生した IAN の神経線維束の直径は Injury group よりも Cell group が有意に大きかった。

術後2週における MBP 陽性髄鞘の平均数は Injury group よりも Cell group が有意に多かった。また、術後1週および2週における S100B 陽性領域の面積は、Injury group よりも Cell group が有意に大きかった。

また、GFP 陽性である SCs は、術後1および2週で再生した IAN 中の髄鞘に主に存在することが確認された。

von Frey 試験の結果から、Cell group の知覚機能の回復がより早いことが示された。再生した IAN の H&E 染色において、Cell group における再生神経の直径は太く、正常なラット IAN の太さとほぼ同じであった。これらの結果から感覚機能と再生した IAN の太さには相関があることが示された。術後 2 週間で、Injury group と比較して、Cell group における MBP 陽性髄鞘数は有意に多かった。加えて、MBP の染色パターンは、シュワン細胞マーカである S100B の染色パターンと顕著に類似していた。これらの結果より、シュワン細胞による細胞移植療法は軸索の数と有髄線維束の太さを増加させることが示された。また、再生した IAN 中には GFP 陽性細胞を検出した。この結果から、ドナー細胞であるシュワン細胞は IAN の再生に関与し、髄鞘化の促進に寄与することが示された。

本研究は、臨床における下歯槽神経損傷症例への再生医療の基礎研究であり、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。